

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0031224

(43) 공개일자 2024년03월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 15/86 (2006.01) A61K 48/00 (2006.01)

A61P 27/16 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 15/86 (2013.01)

A61K 48/005 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-7041741

(22) 출원일자(국제) 2022년05월04일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2023년12월04일

(86) 국제출원번호 PCT/US2022/027679

(87) 국제공개번호 WO 2022/235805

국제공개일자 2022년11월10일

(30) 우선권주장

63/184,015 2021년05월04일 미국(US)

(71) 출원인

데시벨 테라퓨틱스, 인크.

미국 02215 매사추세츠주 보스턴 스위트 500 보일스턴 스트리트 1325

(72) 발명자

번즈, 조셉

미국 02215 매사추세츠 보스턴 보일스턴 스트리트 1325 스위트 500

집슨, 타일러

미국 02215 매사추세츠 보스턴 보일스턴 스트리트 1325 스위트 500

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양영준, 이상남

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 전정 지지 세포 프로모터 및 이의 용도

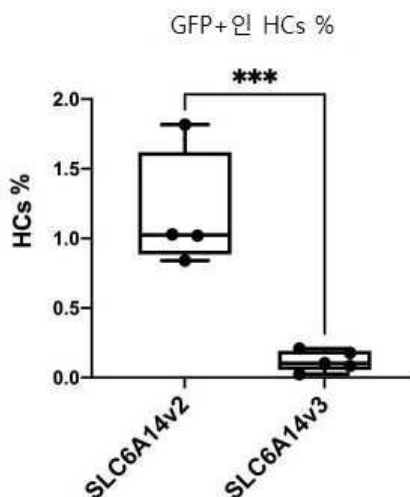
(57) 요약

전정 지지 세포 프로모터 및 이의 용도

요약서

본 명세서는 SLC6A14 프로모터를 함유하는 폴리뉴클레오티드, 뿐만 아니라 이를 함유하는 벡터를 제공하며, 이를 이용하여 전정 지지 세포에서 이식유전자의 발현을 촉진시킬 수 있다. 상기 본원에 기술된 폴리뉴클레오티드는 상기 이식유전자의 전정 지지 세포 발현을 촉진시키기 위해, 이를 테면 관심대상의 단백질을 인코딩하는 이식유전자에 작동가능하도록 연계될 수 있다. 상기 본원에 기술된 폴리뉴클레오티드는 이식유전자에 작동가능하도록 연계되어, 전정 기능장애를 갖는 대상체 또는 이의 발생 위험에 처한 대상체들을 치료하는데 이용될 수 있다.

대표도 - 도2c



(52) CPC특허분류

A61P 27/16 (2018.01)

C12N 2750/14143 (2013.01)

C12N 2830/008 (2013.01)

(72) 발명자

프레게니그, 가브리엘라

미국 02215 매사추세츠 보스턴 보일스턴 스트리트

1325 스위트 500

쏘, 캐시

미국 02215 매사추세츠 보스턴 보일스턴 스트리트

1325 스위트 500

명세서

청구범위

청구항 1

서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 용질 담체 패밀리 6 구성원 14 (SLC6A14) 프로모터를 포함하는 핵산 벡터.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 이때 SLC6A14 프로모터는 서열 식별 번호: 1의 서열을 갖는, 핵산 벡터.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, 이때 SLC6A14 프로모터는 이식유전자에 작동가능하도록 연계된, 핵산 벡터.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 이때 상기 이식유전자는 이중성 이식유전자인, 핵산 벡터.

청구항 5

청구항 3 또는 4에 있어서, 이때 상기 이식유전자는 단백질, 짧은 헤어핀 RNA (shRNA), 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (ASO), 뉴클레아제, 또는 마이크로RNA를 인코딩하는, 핵산 벡터.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 이때 상기 이식유전자는 단백질을 인코딩하는, 핵산 벡터.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 이때 상기 단백질은 아토날 BHLH 전사 인자 1 (Atoh1), 스팔트 유사 전사 인자 2 (Sal12), 칼모듈린 결합 전사 활성체 1 (Camta1), 헤스 관련된 패밀리 BHLH 전사 인자 및 YRPW 모티프 2 (Hey2), 가타 결합 단백질 2 (Gata2), 헤스 관련된 패밀리 BHLH 전사 인자 및 YRPW 모티프 1 (Hey1), 세라미드 합성효소 2 (Lass2), SRY-박스 10 (Sox10), GATA 결합 단백질 3 (Gata3), 컷트 유사 호메오박스 1 (Cux1), 핵 수용체 서브 패밀리 2 그룹 F 구성원 (Nr2f1), 헤스 관련된 패밀리 BHLH 전사 인자 (Hes1), RAR 관련된 올판 수용체 B (Rorb), 준 프로토-종양유전자 AP-1 전사 인자 하위단위 (Jun), 아연 핑거 단백질 667 (Zfp667), LIM 호메오박스 3 (Lhx3), 네이스트 헬릭스-루프-헬릭스 1 (Nhlh1), MAX 이량체화 단백질 4 (Mxd4), 아연 핑거 MIZ-유형 함유 1 (Zmiz1), 미엘린 전사 인자 1 (Myt1), 신호 변환기 및 전사 3의 활성체 (Stat3), BarH 유사 호메오박스 1 (Barhl1), 흥선세포 선택 연합된 높은 이동성 그룹 박스 (Tox), 변형 호메오박스 1 (Prox1), 핵 인자 I A (Nfia), 갑상선 호르몬 수용체 베타 (Thrb), MYCL 프로토-종양유전자 BHLH 전사 인자 (Myc11), 리신 탈메틸효소 5A (Kdm5a), CAMP 반응성 요소 결합 단백질 3 유사 4 (Creb3I4), ETS 변이체 1 (Etv1), 부계로 발현된 3 (Peg3), BTB 도메인 및 CNC 상동체 2 (Bach2), ISL LIM 호메오박스 1 (Isl1), 아연 핑거 및 BTB 도메인 함유 38 (Zbtb38), 사지 버드 및 심장 발달 (Lbh), 터비 이분성 전사 인자 (Tub), 유비퀴틴 C (Hmg20), RE1 침묵 전사 인자 (Rest), 아연 핑거 단백질 827 (Zfp827), AF4/FMR2 패밀리 구성원 3 (Aff3), PBX/노티드 1 호메오박스 2 (Pknox2), AT-풍부 상호작용 도메인 3B (Arid3b), MLX 상호작용하는 단백질 (Mlxip), 아연 핑거 단백질 (Zfp532), IKAROS 패밀리 아연 핑거 2 (Ikzf2), 스팔트 유사 전사 인자 1 (Sal11), SIX 호메오박스 2 (Six2), 스팔트 유사 전사 인자 3 (Sal13), Lin-28 상동체 B (Lin28b), 조절 인자 X7 (Rfx7), 뇌 유래된 신경영양성 인자 (Bdnf), 성장 인자 독립적 1 전사적 억제체 (Gfi1), POU 클래스 4 호메오박스 3 (Pou4f3), MYC 프로토-종양유전자 BHLH 전사 인자 (Myc), β -카테닌 (Ctnnb1), SRY-박스 2 (Sox2), SRY-박스 4 (Sox4), SRY-박스 11 (Sox11), TEA 도메인 전사 인자 2 (Tead2), 또는 Atoh1 변이체인, 핵산 벡터.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 이때 상기 단백질은 Atoh1인, 핵산 벡터.

청구항 9

청구항 3-8 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 핵산 벡터는 SLC6A14 프로모터의 5'에 제1 역전된 말단 반복부를 포함하고; 그리고, 상기 이식유전자의 3', 그리고 5'에서 3' 순서로, 임의선택적 전사-후 조절 요소, 폴리 아데닐화 신호, 그리고 제2 역전된 말단 반복부를 추가로 포함하는, 핵산 벡터.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831, 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831의 5'에 제1 역전된 말단 반복부를 포함하고, 이때 5' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 1-130에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖고; 그리고 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831의 3'에 제2 역전된 말단 반복부를 포함하며, 이때 3' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 3919-4048에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖는, 핵산 벡터.

청구항 11

청구항 9에 있어서, 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822, 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822의 5'에 제1 역전된 말단 반복부를 포함하고, 이때 5' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 1-130에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖고; 그리고 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822의 3'에 제2 역전된 말단 반복부를 포함하며, 이때 3' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 3910-4039에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖는, 핵산 벡터.

청구항 12

청구항 1-11 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 핵산 벡터는 플라스미드인, 핵산 벡터.

청구항 13

청구항 1-11 중 임의의 한 항에 있어서, 이때 상기 핵산 벡터는 아데노-연합된 바이러스 (AAV) 벡터인, 핵산 벡터.

청구항 14

청구항 13에 있어서, 이때 상기 AAV 벡터는 AAV8 캡시드를 갖는, 핵산 벡터.

청구항 15

청구항 1-14 중 임의의 한 항에 따른 핵산 벡터 및 약제학적으로 수용가능한 운반체, 희석제, 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 16

포유류 전정 지지 세포 (VSC)에서 이식유전자를 발현시키는 방법에 있어서, 이 방법은 상기 포유류 VSC에 청구항 1-14 중 임의의 한항에 따른 핵산 벡터 또는 청구항 15의 조성물을 접촉시키는 것을 포함하는 방법.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 이때 상기 포유류 VSC는 인간 VSC인, 방법.

청구항 18

전정 기능장애를 갖는 또는 이러한 장애 발달 위험이 있는 대상체를 치료하는 방법에 있어서, 이 방법은 대상체의 나이로 청구항 1-14 중 임의의 한항에 따른 핵산 벡터 또는 청구항 15의 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 19

전정 유모 세포 재생을 필요로 하는 대상체에서 전정 유모 세포 재생을 유도 또는 증가시키는 방법에 있어서, 이 방법은 대상체의 나이로 청구항 1-14 중 임의의 한항에 따른 핵산 벡터 또는 청구항 15의 조성물의 효과량을

투여하는 것을 포함하는, 방법.

청구항 20

양측성 전정병증을 갖는 또는 이의 발달 위험에 처해 있는 대상체를 치료하는 방법에 있어서, 이 방법은 대상체의 내이로 청구항 1-14 중 임의의 한항에 따른 핵산 벡터 또는 청구항 15의 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

서열 목록

[0002]

본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이의 전문은 본 명세서에 참고문헌으로 포함된다. 이 ASCII 사본은 2022년 4월 28일자로 생성되었으며, 51471-010W02_Sequence_Listing_4_28_22_ST25 이름으로 불리며, 크기는 41,804 바이트이다.

배경 기술

[0003]

배경

[0004]

전정(vestibular) 기능장애는 삶의 질에 중대한 영향을 미치는 주요 공중 보건 문제다. 40세 이상 미국 성인의 대략 35%가 균형 장애를 나타내며, 이 비율은 나이가 들수록 급격히 증가하고, 일상 활동의 방해, 기분 및 인지 저하, 노인의 낙상 발생률 증가로 이어진다. 전정 기능장애는 종종 후천적으로 발생하며, 질환이나 감염, 두부 외상, 이독성 약물, 및 노화를 비롯한 다양한 원인이 있다. 전정 기능장애의 원인에 대한 일반적인 요인은 내이의 전정 유모 세포(hair cells)의 손상이다. 따라서, 유모 세포 기능 회복을 목표로 하는 치료법은 전정 기능장애로 고통받는 환자에게 유익할 것이다. 전정 지지 세포는 손상 후 자발적으로 유모 세포로 분화하는 것으로 알려져 있으므로, 따라서 유모 세포 기능을 회복하기 위한 적합한 치료 표적이 될 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005]

발명의 요약

[0006]

본 발명은 특정 세포 유형에서 유모 세포 또는 지지 세포들의 촉진 또는 개선하거나, 세포 기능, 재생, 성숙, 증식 또는 생존을 지원하는 유전자와 같은 관심 유전자의 발현을 촉진하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 본원에 기술된 조성물들 및 방법들은 내이의 전정 지지 세포(VSCs)에서 이식유전자(transgene)의 발현을 유도하는 데 사용될 수 있는 용질 담체 패밀리 6 구성원 14(SLC6A14) 프로모터 서열에 관한 것이다. 본원에 기재된 SLC6A14 프로모터 서열은 이식유전자에 작동가능하도록 연계될 수 있으며, 전정 기능장애 (가령, 현기증, 현기증, 불균형, 양측성 전정병증, 양측성 전정 기능 저하, 진동시증, 또는 균형 장애)를 치료하기 위해 환자에게 투여될 수 있다. 본원에 기재된 SLC6A14 프로모터 서열은 기타 내이 세포 유형들, 이를 테면 유모 세포에서 훨씬 더 낮은 발현과 함께, 작동가능하도록 연계된 이식유전자의 높은 발현을 유도함으로써 높은 세포 유형-특이성을 입증한다.

[0007]

제1 측면에서, 본 발명은 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 벡터를 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 90% 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 95% 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열 식별 번호: 1의 서열을 갖는다.

[0008]

일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 이식유전자에 작동가능하도록 연계된다. 일부 구체예들에서, 상기 이식유전자는 이중성 이식유전자이다. 일부 구체예들에서, 상기 이식유전자는 단백질 (가령, 치료 단백질 또는 리포터 단백질), 짧은 헤어핀 RNA (shRNA), 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO), 뉴클레아제 (가령, CRISPR 연합된 단백질 9 (Cas9), 전사 활성화제-유사 작동체 뉴클레아제 (TALEN), 아연 핑거 뉴클레아제 (ZFN), 또는 가이드 RNA (gRNA)), 또는 마이크로RNA를 인코딩한다. 일부 구체예들에서, 상기 이식유전자는 단백질을

인코딩한다.

[0009] 일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 포유류 VSC에서 단백질 (가령, 치료 단백질 또는 리포터 단백질), shRNA, ASO, 뉴클레아제, 또는 마이크로RNA의 전정 지지 세포 (VSC)-특이적 발현을 지시한다. 일부 구체예들에서, 상기 VSC는 인간 VSC이다.

[0010] 일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드에 이식유전자 작동가능하도록 연계된 상기 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된 단백질은 스파트 유사 전사 인자 2 (Sal12), 칼모듈린 결합 전사 활성체 1 (Camta1), YRPW 모티프 2를 갖는 헤스(Hes) 관련된 패밀리 BHLH 전사 인자(Hey2), 가타(Gata) 결합 단백질 2 (Gata2), YRPW 모티프 1을 갖는 헤스 관련된 패밀리 BHLH 전사 인자 (Hey1), 세라미드 합성효소 2 (Lass2), SRY-박스 10 (Sox10), GATA 결합 단백질 3 (Gata3), 컷트 유사 호메오박스 1 (Cux1), 핵 수용체 서브패밀리 2 그룹 F 구성원 (Nr2f1), 헤스 관련된 패밀리 BHLH 전사 인자 (Hes1), RAR 관련된 올판 수용체 B (Rorb), 준 프로토-종양유전자 AP-1 전사 인자 하위단위 (Jun), 아연 핑거 단백질 667 (Zfp667), LIM 호메오박스 3 (Lhx3), 네이슨트 헬릭스-루프-헬릭스 1 (Nh1h1), MAX 이량체화 단백질 4 (Mxd4), 아연 핑거 MIZ-유형 함유 1 (Zmiz1), 미엘린 전사 인자 1 (Myt1), 신호 변환기 및 전사 3의 활성체 (Stat3), BarH 유사 호메오박스 1 (Barhl1), 흥선세포 선택 연합된 높은 이동성 그룹 박스 (Tox), 변형 호메오박스 1 (Prox1), 핵 인자 I A (Nfia), 갑상선 호르몬 수용체 베타 (Thrb), MYCL 프로토-종양유전자 BHLH 전사 인자 (Myc11), 리신 탈메틸효소 5A (Kdm5a), CAMP 반응성 요소 결합 단백질 3 유사 4 (Creb3I4), ETS 변이체 1 (Etv1), 부계로 발현된 3 (Peg3), BTB 도메인 및 CNC 상동체 2 (Bach2), ISL LIM 호메오박스 1 (Isl1), 아연 핑거 및 BTB 도메인 함유 38 (Zbtb38), 사지 버드 및 심장 발달 (Lbh), 터비 이분성 전사 인자 (Tub), 유비퀴틴 C (Hmg20), RE1 침묵 전사 인자 (Rest), 아연 핑거 단백질 827 (Zfp827), AF4/FMR2 패밀리 구성원 3 (Aff3), PBX/노티드 1 호메오박스 2 (Pknos2), AT-풍부 상호작용 도메인 3B (Arid3b), MLX 상호작용하는 단백질 (Mlxip), 아연 핑거 단백질 (Zfp532), IKAROS 패밀리 아연 핑거 2 (Ikzf2), 스파트 유사 전사 인자 1 (Sal11), SIX 호메오박스 2 (Six2), 스파트(Spalt) 유사 전사 인자 3 (Sal13), 린-28 상동체 B (Lin28b), 조절 인자 X7 (Rfx7), 뇌 유래된 신경영양성 인자 (Bdnf), 성장 인자 독립적 1 전사적 억제체 (Gfi1), POU 클래스 4 호메오박스 3 (Pou4f3), MYC 프로토-종양유전자 BHLH 전사 인자 (Myc), β -카테닌 (Ctnnb1), SRY-박스 2 (Sox2), SRY-박스 4 (Sox4), SRY-박스 11 (Sox11), TEA 도메인 전사 인자 2 (Tead2), 아토날 BHLH 전사 인자 1 (Atoh1), 또는 Atoh1 변이체다.

[0011] 일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드에 작동가능하도록 연계된 이식유전자에 의해 인코딩된 단백질은 Atoh1 또는 Atoh1 변이체다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 변이체는 서열 식별 번호: 4에 대해 S328A, S331A, S334A, S328A/S331A, S328A/S334A, S331A/S334A, 및 S328A/S331A/S334로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 단백질은 Atoh1 (가령, 인간 Atoh1)이다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질은 서열 식별 번호: 4의 서열, 또는 하나 또는 그 이상의 (가령, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상) 연속 아미노산 치환을 갖는 이의 변이체를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질은 서열 식별 번호: 6의 서열, 또는 하나 또는 그 이상의 (가령, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상) 연속 아미노산 치환을 갖는 이의 변이체를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질 변이체 내 아미노산들 중 10%를 넘지않는 (10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 또는 이보다 더 적은) 아미노산이 연속 아미노산 치환이다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질은 서열 식별 번호: 4의 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질은 서열 식별 번호: 5의 서열에 의해 인코딩된다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질은 서열 식별 번호: 6의 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질은 서열 식별 번호: 7의 서열에 의해 인코딩된다.

[0012] 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 역전된 말단 반복부 서열 (ITRs)이 더 내포된다. 상기 핵산 벡터에 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 본 발명의 폴리뉴클레오티드가 내포된 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 상기 폴리뉴클레오티드의 5'에 제1 ITR 서열을, 그리고 상기 이식유전자의 3'에 제2 ITR 서열을 내포하고 있다. 일부 구체예들에서, 상기 ITRs는 AAV2 ITRs이다. 일부 구체예들에서, 상기 ITRs는 AAV2 ITRs에 대해 적어도 80% 서열 동일성 (가령, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성)을 갖는다.

[0013] 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 폴리아데닐화 (poly(A)) 서열이 더 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 poly(A) 서열은 소의 성장 호르몬 (bGH) poly(A) 신호 서열이다. 상기 핵산 벡터에 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 본 발명의 폴리뉴클레오티드가 내포된 구체예들에 있어서, 상기 poly(A) 서열은 상기 이식유전자의 3'에 위치한다. 상기 핵산 벡터에 제1 및 제2 ITR 서열, 그리고 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 본 발

명의 폴리뉴클레오타이드가 내포된 구체예들에 있어서, 상기 poly(A) 서열은 상기 이식유전자의 3' 및 제2 ITR 서열의 5'에 위치한다.

- [0014] 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 우드척 전사후 조절 요소 (WPRE)가 더 내포된다. 일부 구체예들에서, WPRE는 서열 식별 번호: 8 또는 서열 식별 번호: 9의 서열을 갖는다. 상기 핵산 벡터에 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 본 발명의 폴리뉴클레오타이드가 내포된 구체예들에서, 상기 WPRE는 상기 이식유전자의 3'에 위치한다. 상기 핵산 벡터에 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 및 poly(A) 서열이 내포된 구체예들에서, 상기 WPRE는 상기 이식유전자의 3' 및 poly(A) 서열의 5'에 위치한다.
- [0015] 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터는 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 함유한다.
- [0016] 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터는 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 함유한다.
- [0017] 일부 구체예들에서, 본 발명의 핵산 벡터에는 인간 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 작동가능하도록 연계된 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1의 폴리뉴클레오타이드)가 내포된다 (인간 ATOH1 단백질 = RefSeq 수탁 번호. NP_005163 (서열 식별 번호: 4); mRNA 서열 = RefSeq 수탁 번호. NM_005172). 좀더 특이적인 일부 구체예들에 있어서, 본 발명의 핵산 벡터에는 인간 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 작동가능하도록 연계된 서열 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 4를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열, 이를 테면 서열 식별 번호: 5의 폴리뉴클레오타이드 서열)가 내포된다. 더더욱 특이적인 일부 구체예들에 있어서, 상기 핵산 벡터에는 5'에서 3' 순서로, 제1 역전된 말단 반복부; 서열 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터; SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 인간 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열; 폴리아데닐화 서열; 그리고 제2 역전된 말단 반복부가 내포된다. 추가로, 더욱 특이적인 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 5'에서 3' 순서로, 제1 역전된 말단 반복부; 서열 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터; SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 인간 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열; WPRE; 폴리아데닐화 서열; 그리고 제2 역전된 말단 반복부가 내포된다. 더 더욱 특이적인 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 역전된 말단 반복부의 측면에 있는, 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831이 내포된다. 더 더욱 특이적인 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 역전된 말단 반복부의 측면에 있는, 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831이 내포되며, 이때 5' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 1-130에 대해 적어도 80% 서열 동일성 (가령, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성)을 갖고; 그리고 이때 3' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 3919-4048에 대해 적어도 80% 서열 동일성 (가령, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성)을 갖는다.
- [0018] 일부 구체예들에서, 본 발명의 핵산 벡터에는 뮤린 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 작동가능하도록 연계된 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1의 폴리뉴클레오타이드)가 내포된다 (뮤린 ATOH1 단백질 = UniProt P48985 (서열 식별 번호: 6); mRNA 서열 = RefSeq 수탁 번호. NM_007500.5). 좀더 특이적인 일부 구체예들에 있어서, 본 발명의 핵산 벡터에는 인간 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 작동가능하도록 연계된 서열 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 6을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열, 이를 테면 서열 식별 번호: 7의 폴리뉴클레오타이드 서열)가 내포된다. 더더욱 특이적인 일부 구체예들에 있어서, 상기 핵산 벡터에는 5'에서 3' 순서로, 제1 역전된 말단 반복부; 서열 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터; SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 뮤린 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열; 폴리아데닐화 서열; 그리고 제2 역전된 말단 반복부가 내포된다. 추가로, 더욱 특이적인 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는, 5'에서 3' 순서로, 제1 역전된 말단 반복부; 서열 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터; SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 뮤린 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열; WPRE; 폴리아데닐화 서열; 그리고 제2 역전된 말단 반복부가 내포된다. 더 더욱 특이적인 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 역전된 말단 반복부의 측면에 있는, 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822가 내포된다. 더 더욱 특이적인 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 역전된 말단 반복부의 측면에 있는, 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822가 내포되며, 이때 5' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 1-130에 대해 적어도 80% 서열 동일성 (가령, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성)을 갖고; 그리고 이때 3' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 3910-4039에 대해 적어도 80% 서열 동일성 (가령, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%,

88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성)을 갖는다.

- [0019] 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터는 바이러스성 벡터, 플라스미드, 코스미드, 또는 인위적인 염색체다. 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터는 아데노-연합된 바이러스 (AAV), 아데노바이러스, 및 렌티바이러스가 내포된 그룹으로부터 선택된 바이러스성 벡터다. 일부 구체예들에서, 상기 바이러스성 벡터는 AAV 벡터다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, rh10, rh39, rh43, rh74, Anc80, Anc80L65, DJ/8, DJ/9, 7m8, PHP.B, PHP.eB, 또는 PHP.S 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV1 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV9 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV6 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV8 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 Anc80 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 Anc80L65 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 DJ/9 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 7m8 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV2 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 PHP.B 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV2quad(Y-F) 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 PHP.S 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 PHP.eB 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV3 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV4 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV5 캡시드를 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV7 캡시드를 갖는다.
- [0020] 본 발명의 바이러스성 벡터의 생성은 전형적으로 적절한 바이러스 패키징 및 생존성에 필요한 요소를 제공하는 추가 플라스미드와 함께 본 발명의 플라스미드의 사용을 요구한다 (가령, AAV의 경우, 적절한 AAV rep 유전자, cap 유전자 및 기타 유전자(가령, E2A 및 E4)를 제공하는 플라스미드))는 것을 당업자는 인지해야 한다. 생산자 세포주에서 이러한 플라스미드의 조합으로 바이러스 벡터가 생성된다. 그러나, 바이러스 벡터를 생성하는 데 사용되는 본 발명의 전달 플라스미드의 임의의 주어진 역전된 말단 반복 서열 쌍에 대해, 바이러스 벡터의 상응하는 서열은 ITRs이 "플립(flip)" 또는 "플롭(flop)" 배향을 채택하는 동안 변경될 수 있다는 것을 당업자는 인지할 것이다. 따라서, 전달 플라스미드의 ITR 서열은 이로부터 제조된 바이러스 벡터에서 발견되는 서열과 반드시 동일할 필요는 없다.
- [0021] 또다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 핵산 벡터를 함유하는 조성물을 제공한다. 일부 구체예들에서, 조성물에는 약제학적으로 수용가능한 운반체, 희석제, 또는 부형제가 더 내포된다.
- [0022] 또다른 측면에서, 본 발명은 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 벡터를 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열 식별 번호: 1의 서열을 갖는다.
- [0023] 일부 구체예들에서, 상기 이식유전자는 이중성 이식유전자이다. 전술한 측면들의 일부 구체예들에서, 상기 이식유전자는 단백질 (가령, 치료 단백질 또는 리포터 단백질), shRNA, ASO, 뉴클레아제 (가령, Cas9, TALEN, ZFN, 또는 gRNA), 또는 마이크로RNA를 인코딩한다. 일부 구체예들에서, 상기 이식유전자는 단백질을 인코딩한다.
- [0024] 일부 구체예들에서, 상기 단백질은 Sox9, Sall2, Camta1, Hey2, Gata2, Hey1, Lass2, Sox10, Gata3, Cux1, Nr2f1, Hes1, Rorb, Jun, Zfp667, Lhx3, Nhlh1, Mxd4, Zmiz1, Myt1, Stat3, Barhl1, Tox, Prox1, Nfia, Thrb, Mycl1, Kdm5a, Creb3l4, Etv1, Peg3, Bach2, Isl1, Zbtb38, Lbh, Tub, Hmg20, Rest, Zfp827, Aff3, Pknox2, Arid3b, Mlxip, Zfp532, Ikzf2, Sall1, Six2, Sall3, Lin28b, Rfx7, Bdnf, Gfi1, Pou4f3, Myc, Ctnnb1, Sox2, Sox4, Sox11, Tead2, Atoh1, 또는 Atoh1 변이체 (가령, Atoh1 변이체는 S328A, S331A, S334A, S328A/S331A, S328A/S334A, S331A/S334A, 및 S328A/S331A/S334로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 갖는다)이다. 일부 구체예들에서, 상기 단백질은 Atoh1 (가령, 인간 Atoh1)이다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질은 서열 식별 번호: 4의 서열, 또는 하나 또는 그 이상의 (가령, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상) 연속 아미노산 치환을 갖는 이의 변이체를 포함한다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질 변이체 내 아미노산들 중 10%를 넘지않는 (10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 또는 이보다 더 적은) 아미노산이 연속 아미노산 치환이다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질은 서열 식별 번호: 4의 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 Atoh1 단백질은 서열 식별 번호: 5의 서열에 의해 인코딩된다.
- [0025] 또다른 측면에서, 본 발명은 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 폴리뉴클레오티드 또는 핵산 벡터가 내포된

세포 (가령, 포유류 세포, 가령, 인간 세포, 이를 태면, VSC)를 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 세포는 포유류 VSC다. 일부 구체예들에서, 상기 포유류 VSC는 인간 VSC이다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는다.

[0026] 또다른 측면에서, 본 발명은 포유류 VSC에 전술한 측면들 및 구체예들중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물을 접촉 시킴으로써, 포유류 VSC에서 이식유전자를 발현시키는 방법을 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 이식유전자는 VSCs에서 특이적으로 발현된다 (가령, 발현이 관찰되는 하나 또는 그 이상의 기타 내이 세포 (가령, 유모 세포)의 백분율보다 적어도 2-배, 5-배, 10-배, 50-배, 100-배, 200-배, 300-배, 400-배, 500-배 또는 더 큰 VSCs의 백분율로 발현된다). 일부 구체예들에서, 상기 포유류 VSC는 인간 VSC이다.

[0027] 또다른 측면에서, 본 발명은 대상체의 내이로 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 상기 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 투여함으로써, 전정 기능장애를 갖는 또는 이러한 장애 발달 위험이 있는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 전정 기능장애는 현기증, 어지러움, 불균형, 양측성 전정병증 (양측 전정 기능 저하로도 알려짐), 진동시증, 또는 균형 장애다. 일부 구체예들에서, 상기 전정 기능장애는 노화-관련된 전정 기능장애, 두부-외상-관련된 전정 기능장애, 질환 또는 감염-관련된 전정 기능장애, 또는 내이독성 약물-유도된 전정 기능장애다. 일부 구체예들에서, 상기 전정 기능장애는 유전적 돌연변이와 연관된다. 일부 구체예들에서, 상기 전정 기능장애는 특발성 전정 기능장애다.

[0028] 또다른 측면에서, 본 발명은 전정 유모 세포 재생 유도 또는 증가를 요하는 대상체에게 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 대상체의 내이로 투여함으로써, 전정 유모 세포 재생 유도 또는 증가 방법을 제공한다.

[0029] 또다른 측면에서, 본 발명은 VSC 증식을 유도 또는 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 이를 요하는 대상체에게 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 대상체의 내이로 투여함으로써 제공된다.

[0030] 또다른 측면에서, 본 발명은 전정 유모 세포의 증식 유도 또는 증가를 요하는 대상체에게 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 대상체의 내이로 투여함으로써, 전정 유모 세포 재생 유도 또는 증가 방법을 제공한다.

[0031] 또다른 측면에서, 본 발명은 전정 유모 세포의 성숙 유도 또는 증가를 요하는 대상체에게 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 대상체의 내이로 투여함으로써, 전정 유모 세포 재생 유도 또는 증가 방법을 제공한다. 일부 구체예들에서, 상기 전정 유모 세포는 재생된 전정 유모 세포다.

[0032] 또다른 측면에서, 본 발명은 VSC 생존을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 이를 요하는 대상체에게 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 대상체의 내이로 투여함으로써 제공된다.

[0033] 또다른 측면에서, 본 발명은 전정 유모 세포의 생존을 증가시키는 방법을 제공하며, 이 방법은 이를 요하는 대상체에게 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 대상체의 내이로 투여함으로써 제공된다.

[0034] 또다른 측면에서, 본 발명은 전정 유모 세포의 신경분포의 유도 또는 증가를 요하는 대상체에게 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 대상체의 내이로 투여함으로써, 전정 유모 세포 재생 유도 또는 증가 방법을 제공한다.

[0035] 전술한 측면들 중 임의의 측면의 일부 구체예들에서, 대상체는 전정 기능장애 (가령, 현기증, 어지러움, 불균형, 양측성 전정병증 (양측 전정 기능 저하), 진동시증, 또는 균형 장애)를 갖고 있거나, 또는 발달 위험에 처해 있다.

[0036] 또다른 측면에서, 본 발명은 양측성 전정병증을 갖는 또는 이의 발달 위험에 처해 있는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 이 방법은 해당 대상체의 내이로 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 투여하는 것이다. 일부 구체예들에서, 상기 양측성 전정병증은 내이독성 약물-유도된 양측성 전정병증이다.

[0037] 전술한 측면들 중 임의의 측면의 일부 구체예들에서, 상기 내이독성 약물은 아미노글리코사이드, 항종양제, 에타크린산, 푸로세미드, 살리실산염, 퀴닌으로 구성된 군에서 선택된다.

- [0038] 또다른 측면에서, 본 발명은 진동시증을 갖는 또는 이의 발달 위험에 처해 있는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 이 방법은 해당 대상체의 내이로 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 투여하는 것이다.
- [0039] 또다른 측면에서, 본 발명은 균형 장애 (가령, 불균형)를 갖는 또는 이의 발달 위험에 처해 있는 대상체를 치료하는 방법을 제공하며, 이 방법은 해당 대상체의 내이로 전술한 측면들 및 구체예들 중 임의의 핵산 벡터 또는 조성물의 효과량을 투여하는 것이다.
- [0040] 전술한 측면들 중 임의의 측면의 일부 구체예들에서, 상기 방법에는 상기 핵산 벡터 또는 조성물을 투여하기 전, 대상체의 전정 기능을 평가하는 것이 더 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 방법에는 상기 핵산 벡터 또는 조성물을 투여한 후, 대상체의 전정 기능을 평가하는 것이 더 내포된다.
- [0041] 전술한 측면들 중 임의의 측면의 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 국소적으로 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 반고리관으로 투여된다. 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 고막을 경유하여 또는 고막 내로 투여된다 (가령, 고막을 경유하여 또는 고막 내 주사를 통해). 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 외림프 또는 내림프에 투여되며, 이를 테면 타원형 창, 둥근 창 또는 반고리관 (가령, 수평 관)을 통해, 가령, 전정 지지 세포로 투여된다. 일부 구체예들에서, 본 발명의 핵산 벡터 또는 조성물은 외림프로 투여된다. 일부 구체예들에서, 본 발명의 핵산 벡터 또는 조성물은 내림프로 투여된다. 일부 구체예들에서, 본 발명의 핵산 벡터 또는 조성물은 타원형 창으로 또는 이를 통해 투여된다. 일부 구체예들에서, 본 발명의 핵산 벡터 또는 조성물은 둥근 창으로 또는 둥근 창을 통해 투여된다.
- [0042] 전술한 측면들 중 임의의 측면의 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 전정 기능장애를 예방하거나 또는 감소시키기 위해, 전정 기능장애 발달을 지연시키기 위해, 전정 기능장애의 진행을 느리게 하기 위해, 전정 기능을 개선시키기 위해, 전정 유모 세포 수를 증가시키기 위해, 전정 유모 세포 성숙을 증가시키기 위해, 전정 유모 세포 증식을 증가시키기 위해, 전정 유모 세포 재생을 증가시키기 위해, 전정 유모 세포 신경분포를 증가시키기 위해, VSC 증식을 증가시키기 위해, 또는 VSC 수를 증가시키기 위해 충분한 양으로 투여된다.
- [0043] 전술한 측면들 중 임의의 측면의 일부 구체예들에서, 대상체는 인간이다.
- [0044] 또다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 핵산 벡터 또는 본 발명의 조성물을 함유하는 키트를 제공한다.
- [0045] **정의**
- [0046] 본원에서 이용된 바와 같이, "투여"란 대상체에게 치료 작용제 (가령, 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 용질 담체 패밀리 6 구성원 14 (SLC6A14) 프로모터를 함유하는 핵산 벡터)를 임의의 효과적인 경로를 통하여 제공하거나 또는 부여하는 것을 지칭한다. 투여의 예시적인 경로는 본원의 하기에 기술된다.
- [0047] 본원에서 이용된 바와 같이, "내이로 투여하는"이라는 문구는 내이 세포의 형질도입을 허용하는 임의의 경로에 의해 대상체에게 본원에 기술된 치료제를 제공하거나 부여하는 것을 의미한다. 내이로의 투여를 위한 예시적인 경로에는 외림프 또는 내림프, 이를 테면 타원형 창, 둥근 창 또는 반고리관(가령, 수평 관)으로, 또는 이를 통과하는, 또는 고막 경유 또는 고막 내 주사에 의해, 예를 들어 전정, 예를 들어 전정 지지 세포로 투여가 내포된다.
- [0048] 본원에서 이용된 바와 같이, "세포 유형"이라는 용어는 유전자 발현 데이터를 기반으로 통계적으로 분리 가능한 표현형을 공유하는 세포 그룹을 의미한다. 예를 들어, 공통 세포 유형의 세포는 유사한 유전자 활성화 패턴 및 항원 제시 프로파일과 같은 유사한 구조적 및/또는 기능적 특성을 공유할 수 있다. 공통 세포 유형의 세포에는 공통 조직(가령, 상피 조직, 신경 조직, 결합 조직 또는 근육 조직)에서 분리된 세포 및/또는 공통 기관, 조직계, 혈관, 또는 유기체의 다른 구조 및/또는 영역세포에서 분리된 세포가 내포될 수 있다.
- [0049] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "연속 돌연변이", "연속 치환", 및 "연속 아미노산 치환"이란 하나 또는 그 이상 아미노산이 유사한 물리화학적 속성, 이를 테면, 극성, 정전기적 전하, 그리고 입체 볼륨을 나타내는 하나 또는 그 이상의 상이한 아미노산으로 치환되는 것을 지칭한다. 이러한 속성은 아래 표 1에서 20 개의 자연 발생적 아미노산 각각에 대해 요약되어 있다.

[0050] 표 1. 자연 발생적 아미노산들의 대표적인 물리화학적 속성

아미노산	3 문자 코드	1 문자 코드	측쇄-극성	생리적 pH (7.4)에서 정전기 특성	입체 볼륨 [†]
알라닌	Ala	A	비극성	중성	작은
아르기닌	Arg	R	극성	양이온성	큰
아스파라긴	Asn	N	극성	중성	중간
아스파르트산	Asp	D	극성	음이온성	중간
시스테인	Cys	C	비극성	중성	중간
글루탐산	Glu	E	극성	음이온성	중간
글루타민	Gln	Q	극성	중성	중간
글리신	Gly	G	비극성	중성	작은
히스티딘	His	H	극성	pH 7.4 에서 중성 및 양이온 형태 모두가 평형을 이룸	큰
이소류신	Ile	I	비극성	중성	큰
류신	Leu	L	비극성	중성	큰
리신	Lys	K	극성	양이온성	큰
메티오닌	Met	M	비극성	중성	큰
페닐알라닌	Phe	F	비극성	중성	큰
프롤린	Pro	P	비-극성	중성	중간
세린	Ser	S	극성	중성	작은
트레오닌	Thr	T	극성	중성	중간
트립토판	Trp	W	비극성	중성	벌크(bulky)
티로신	Tyr	Y	극성	중성	큰
발린	Val	V	비극성	중성	중간
[†] A ³ 에서 용적에 기반을 둔: 50-100 은 작고 100-150 은 중간이며, 150-200 은 크고, > 200 은 벌크임.					

[0051]

[0052] 이 표에서 보존적 아미노산 패밀리에는 (i) G, A, V, L 및 I; (ii) D 및 E; (iii) C, S 및 T; (iv) H, K 및 R; (v) N 및 Q; 그리고 (vi) F, Y 및 W가 내포된다. 보존적 돌연변이 또는 치환은 하나의 아미노산을 동일한 아미노산 패밀리의 구성원으로 치환을 말한다(예를 들면, Thr을 Ser으로 치환 또는 Arg를 Lys으로 치환).

[0053] 본원에서 이용된 바와 같이, 본원에서 기술된 조성물, 벡터 구조체, 또는 바이러스성 벡터의 "효과량", "치료요법적으로 효과량", 및 "충분한 양"이란 용어는 포유동물, 예를 들어 인간을 포함하는 대상체에게 투여될 때, 임상 결과를 포함하여 유익하거나 원하는 결과를 가져오기에 충분한 양을 의미하며, 따라서 "유효량" 또는 이에 대한 동의어는 그것이 적용되는 상황에 따라 달라진다. 예를 들면, 전정 기능 장애를 치료하는 맥락에서, 이는 조성물, 벡터 구조체 또는 바이러스 벡터의 투여 없이 얻은 반응과 비교하여, 치료 반응을 달성하기에 충분한 조성물, 벡터 구조물 또는 바이러스 벡터의 양이다. 그러한 양에 상응하는 주어진 조성물의 양은 다양한 인자, 예컨대, 주어진 작용제, 약제학적 제형, 투여 경로, 질환 또는 장애의 유형, 치료되는 대상체의 실체 (가령, 나이, 성별, 체중) 및 이와 유사한 것들에 따라 달라질 것이지만, 그러나 당업자에 의해 일상적으로 결정될 수 있다. 또한, 본원에서 이용된 바와 같이, 본 명세서의 조성물, 벡터 구조체, 또는 바이러스성 벡터의 "치료요법적으로 효과량"은 대조군과 비교하여 대상체에게 유익하거나 원하는 결과를 가져오는 양이다. 본원에서 정의된 바와 같이, 본 명세서의 조성물, 벡터 구조체, 또는 바이러스성 벡터의 치료요법적으로 효과량은 당업계에 공지

된 일상적인 방법에 의해 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 최적의 반응을 제공하기 위해 투여량 섭생을 조정할 수 있다.

- [0054] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "내생적(endogenous)"이란 특정 유기체 (예를 들면, 인간)에서 자연적으로 발견되거나, 또는 유기체의 특정 위치 (가령, 장기, 조직, 또는 세포, 이를 테면 인간 세포, 가령, 인간 전정 지지 세포)에서 자연적으로 발견되는 분자 (예를 들면, 폴리펩티드, 핵산, 또는 공-인자)를 설명한다.
- [0055] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "발현하다"란 다음의 사건들 중 하나 또는 그 이상을 지칭한다: (1) DNA 서열로부터 RNA 주형 생산(가령, 전사에 의해); (2) RNA 전사체 프로세싱(가령, 스플라이싱, 편집, 5' 캡 형성 및/또는 3' 말단 프로세싱); (3) RNA를 폴리펩티드나 단백질로 해독; 그리고 (4) 폴리펩티드 또는 단백질의 해독-후 변형.
- [0056] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "외생적(exogenous)"이란 특정 유기체 (예를 들면, 인간)에서 자연적으로 발견되거나, 또는 유기체의 특정 위치(가령, 장기, 조직, 또는 세포, 이를 테면 인간 세포, 가령, 인간 전정 지지 세포)에서 자연적으로 발견되는 분자 (예를 들면, 폴리펩티드, 핵산, 또는 공-인자)를 설명한다. 외생적 물질에는 외부 공급원에서 유기체로 제공되는 물질이나 또는 그로부터 추출된 배양물질이 내포된다.
- [0057] 본원에서 이용된 바와 같이, "엑손"이라는 용어는 유전자의 코딩 영역 내의 영역을 의미하며, 그 뉴클레오티드 서열은 상응하는 단백질의 아미노산 서열을 결정한다. 엑손이라는 용어는 또한 유전자로부터 전사된 RNA의 해당 영역을 의미한다. 엑손은 전-mRNA로 전사되며, 유전자의 대체 스플라이싱에 따라 성숙한 mRNA에 내포될 수 있다. 프로세싱 후, 성숙한 mRNA에 내포된 엑손은 단백질로 해독되며, 엑손의 서열에 따라 단백질의 아미노산 조성이 결정된다.
- [0058] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "이종성"이란 자연적으로 발생하지 않는 요소들의 조합을 의미한다. 예를 들면, 이종성 이식유전자는 작동가능하게 연결된 프로모터에 의해 자연적으로 발현되지 않는 이식유전자를 의미한다.
- [0059] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "증가하는" 및 "감소하는"이라는 용어는 각각 기준에 비해 계량지표(metric) 함수, 발현 또는 활성의 양이 더 많거나 또는 더 적도록 조정하는 것을 의미한다. 예를 들면, 본원에 기술된 방법으로 조성물을 투여한 후, 본원에 기술된 계량지표 (예를 들어, 이식유전자 발현)의 마커의 양은 투여-전 마커의 양에 비교하여, 대상체에서 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 98% 또는 그 이상으로 증가하거나 감소할 수 있다. 일반적으로, 계량지표는 투여가 언급된 효과를 가졌던 시점, 예를 들어, 치료 요법이 시작된 후 적어도 1주, 1개월, 3개월 또는 6개월 후 측정된다.
- [0060] 본원에서 이용된 바와 같이, "국소적으로" 또는 "국소 투여"는 전신 효과가 아닌 국소 효과를 목적으로 신체의 특정 부위에 투여하는 것을 의미한다. 국소 투여의 예로는 대상체의 경피적, 흡입, 관절-내, 척추강내, 질내, 유리체내, 자궁내, 병변내 투여, 림프절 투여, 종양내 투여, 중이 또는 내이에 대한 투여 및 대상체의 점막에 대한 투여이며, 이때 상기 투여는 전신 효과가 아닌 국소 효과를 갖도록 의도된다.
- [0061] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "작동가능하도록 연계된"이란 용어는 제2 분자에 결합된 제1 분자를 의미하며, 여기서 분자는 제1 분자가 제2 분자의 기능에 영향을 미치도록 배열되어 있다. 2개의 분자는 단일 연속 분자의 일부일 수도 있고 아닐 수도 있으며, 인접할 수도 있거나, 또는 그렇지 않을 수도 있습니다. 예를 들면, 프로모터가 세포에서 관심대상의 전사가능한 폴리뉴클레오티드 분자의 전사를 조절한다면, 이 프로모터는 이 전사가능한 폴리뉴클레오티드 분자에 작동가능하도록 연계된다. 또한, 전사 조절 요소의 두 부분은 한 부분의 전사 활성화 기능이 다른 부분의 존재로 인해 부정적인 영향을 받지 않도록 연결되면, 서로 작동가능하게 연계된다. 2개의 전사 조절 요소는 링커 핵산(가령, 개재(intervening) 난-코딩 핵산)을 통해 서로 작동 가능하게 연결될 수 있거나, 개재 뉴클레오티드가 존재하지 않는 상태에서 서로 작동가능하게 연계될 수 있다.
- [0062] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "플라스미드"는 추가 DNA 세그먼트가 결합될 수 있는 염색체외 원형 이중 가닥 DNA 분자를 의미한다. 플라스미드는 벡터의 일종으로, 연결된 다른 핵산을 운반할 수 있는 핵산 분자다. 특정 플라스미드는 이들이 도입되는 숙주 세포에서 자율 복제할 수 있다 (예를 들어, 박테리아 복제 원점을 갖는 박테리아 플라스미드 및 에피솜 포유동물 플라스미드). 다른 벡터 (예를 들어, 비-에피솜성 포유동물 벡터)는 숙주 세포에 도입될 때, 당해 숙주 세포의 게놈에 통합될 수 있으며, 이로써 숙주 게놈과 함께 복제된다. 특정 플라스미드는 이들이 작동 가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시 할 수 있다.
- [0063] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "폴리뉴클레오티드"란 뉴클레오티드의 중합체를 지칭한다. 일반적으로, 폴리

뉴클레오타이드는 포스포디에스테르 결합으로 결합된 DNA나 RNA (가령, 아데노신, 티미딘, 구아노신, 시티딘, 우리딘, 데옥시아데노신, 데옥시티미딘, 데옥시구아노신, 데옥시시티딘)에서 자연적으로 발견되는 뉴클레오타이드로 구성된다. 이 용어는 자연 발생 핵산에서 발견되는지 여부에 관계없이, 화학적으로 또는 생물학적으로 변형된 염기, 변형된 백본 등을 함유하는 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체를 포함하는 분자를 포함하며, 이러한 분자는 특정 적용에 바람직할 수 있다. 본 출원이 폴리뉴클레오타이드를 언급하는 경우, DNA, RNA, 그리고 각 경우 단일-가닥 및 이중-가닥 형태 (및 각 단일 가닥 분자의 상보체)가 모두 제공되는 것으로 이해된다. "폴리뉴클레오타이드 서열"은 폴리뉴클레오타이드 물질 자체 및/또는 특정 핵산을 생화학적으로 특성화하는 서열 정보 (즉, 염기의 약어로 사용되는 일련의 문자)를 의미할 수 있다. 본원에 제시된 폴리뉴클레오타이드 서열은 달리 명시되지 않는 한, 5'에서 3' 방향으로 제시된다.

[0064] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "프로모터"라는 용어는 RNA 중합효소에 의해 결합된 DNA의 인식 부위를 의미한다. 상기 중합효소는 이식유전자의 전사를 유도한다.

[0065] 기준 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드 서열에 대한 "서열 동일성 백분율(%)"은 후보 서열의 핵산 또는 아미노산이 기준 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드 서열에의 핵산 또는 아미노산과 동일한 핵산 또는 아미노산의 백분율로 정의되는데, 이때 서열을 정렬시킨 후 최대 서열 동일성 백분율을 얻기 위하여 필요하다면 갭을 도입한다. 핵산 또는 아미노산 서열 동일성 백분율을 결정하기 위한 목적으로 배열은 당업자의 능력범위 안에 있는 기술 분야에 있는 다양한 방법을 통하여 이루어질 수 있는데, 예를 들면, 공개 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어, 이를 테면 BLAST, BLAST-2, 또는 Megalign 소프트웨어를 이용하여 이루어질 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 배열을 획득하기 위한 임의의 알고리즘을 포함하는 서열 배열을 위한 적절한 매개변수를 결정할 수 있다. 예를 들면, 서열 동일성 값의 퍼센트는 서열 비교 컴퓨터 프로그램 BLAST를 이용하여 생성될 수 있다. 예시로서, 주어진 핵산 또는 아미노산 서열 A에 대한, 주어진 핵산 또는 아미노산 서열 B에 대한, 주어진 핵산 또는 아미노산 서열 A의 서열 동일성 백분율(대안적으로는 주어진 핵산 또는 아미노산 서열 A와, 주어진 핵산 또는 아미노산 서열 B와, 이와 함께, 또는 그에 대해 특정 퍼센트 서열 동일성을 갖는 것으로 표현될 수 있음)은 다음과 같이 산출될 수 있다:

[0066] $100 \times \text{비율} (X/Y)$

[0067] 여기서 X는 해당 프로그램의 A와 B 정렬에서 서열 정렬 프로그램 (가령, BLAST)에 의해 동일한 일치로 점수가 매겨진 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 수이고, Y는 B에 있는 핵산의 총 수이다. 핵산 또는 아미노산 서열 A의 길이가 핵산 또는 아미노산 서열 B의 길이와 동일하지 않은 경우, B에 대한 A의 서열 동일성 퍼센트는 A에 대한 B의 서열 동일성 퍼센트와 동일하지 않을 것이라는 것이 이해될 것이다.

[0068] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "약제학적 조성물"이란 선택적으로 하나 또는 그 이상의 약학적으로 허용되는 부형제, 희석제 및/또는 담체와 함께 치료제를 함유하여, 대상체에게 영향을 미치거나 영향을 줄 수 있는 특정 질병이나 상태를 예방, 치료 또는 통제하기 위해 포유동물, 예를 들어, 인간에게 투여되는 혼합물을 의미한다.

[0069] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "약제학적으로 수용가능한"이란 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 및 부작용 없이, 그리고 합리적인 이익/위험 비율에 상응하는 다른 문제 합병증없이, 포유동물 (가령, 인간)과 같은 대상의 조직과 접촉하기에 적합한 화합물, 물질, 조성물 및/또는 투여 형태를 의미한다.

[0070] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "전사 조절 요소"란 관심대상 유전자의 전사를 적어도 부분적으로 제어하는 핵산을 의미한다. 전사 조절 요소에는 유전자 전사를 조절하거나 또는 조절하는 데 도움이 되는 프로모터, 인핸서 및 기타 핵산(가령, 폴리아데닐화 신호)이 내포될 수 있다. 전사 조절 요소의 예시는 예를 들면, Lorence, Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols (Humana Press, New York, NY, 2012)에 기재된다.

[0071] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "형질감염"이란 외생성 DNA를 원핵성 또는 진핵성 숙주 세포로 도입시키기 위해 흔히 이용되는 다양한 기술, 예를 들면, 전기천공, 리포펙션, 칼슘-인산염 침전, DEAE-텍스트란 형질감염, 뉴클레오펙션(Nucleofection), 압착-천공(squeeze-poration), 초음파천공법(sonoporation), 광학적 형질감염, 마그네토펙션(magnetofection), 임팔레펙션(impalefection) 및 이와 유사한 것들중 임의의 것을 지칭한다.

[0072] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "대상체" 및 "환자"란 동물 (가령, 포유류, 이를 테면 인간)을 지칭한다. 본원에 기술된 방법에 따라 치료될 대상체는 전정 기능장애 (가령, 현기증, 어지러움, 또는 불균형)로 진단받았던 대상체 또는 이러한 병태의 발병 위험에 있는 대상체일 수 있다. 진단은 당업계에 공지된 임의의 방법 또는 기술에 의해 수행될 수 있다. 당업자는 본 명세서에 따라 치료될 대상체가 표준 시험을 받았을 수 있거나, 또는

검사없이 상기 질환이나 병태와 관련된 하나 또는 이상의 위험 요소가 존재하기 때문에 이러한 질환 또는 병태의 발병 위험에 있는 것으로 식별해낼 수 있음을 이해할 것이다.

[0073] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "형질도입" 및 "형질도입하다"란 세포로 벡터 구조체 또는 이의 일부분을 도입시키는 방법을 지칭한다. 이때 상기 벡터 구조체는 바이러스성 벡터 이룰 때면 예를 들면 AAV 벡터 안에 함유되며, 형질도입이란 세포의 바이러스 감염과 이후의 벡터 구조체 또는 그 일부의 세포 계놈으로의 전달 및 통합을 의미한다.

[0074] 본원에서 이용된 바와 같이, 질환 또는 병태와 관련하여 "치료" 및 "치료하는"이란 유익하거나 원하는 결과, 예를 들어 임상 결과를 얻기 위한 접근 방식을 의미한다. 유익한 또는 바람직한 임상 결과는 탐지가능하거나, 또는 탐지불가능할 수 있지만, 하나 또는 그 이상의 증상 또는 병태의 경감 또는 개선; 질환 또는 병태의 정도의 감소; 질환 또는 병태의 안정화 (즉, 악화되지 않음); 질환 또는 병태의 확산 방지; 질환 또는 병태의 진행의 지연 또는 둔화; 질환 또는 병태의 개선 또는 완화; 그리고 차도(부분적으로 또는 전체적으로)를 포함할 수 있지만, 이에 국한되지는 않는다. 질환 또는 병태를 "개선시키는" 또는 "완화하는"이란 치료가 없을 때 시간 경과에 따라 또는 그 정도와 비교하여, 질환, 장애 또는 병태의 정도 및/또는 바람직하지 않은 임상 현상이 경감되고 및/또는 진행의 시간 경과가 느려지거나, 또는 길어지는 것을 의미한다. "치료"는 또한 치료를 받지 않을 때, 예상 생존과 비교하여 생존 연장을 의미할 수 있다. 치료를 필요로 하는 사람들은 이미 질병, 상태 또는 장애가 있거나, 해당 상태 또는 장애에 걸릴 경향이 있는 자, 또는 상태 또는 장애를 예방해야 하는 자들을 포함한다.

[0075] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "벡터"에는 핵산 벡터, 가령, DNA 벡터, 이를 테면 플라스미드, 코스미드, 또는 인위적인 염색체, RNA 벡터, 바이러스, 또는 임의의 기타 적합한 레플리콘 (가령, 바이러스성 벡터)이 내포된다. 외생성 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 원핵성 세포 또는 진핵성 세포로 전달하기 위해 다양한 벡터들이 개발되었다. 이러한 발현 벡터들의 예들이 가령, Gellissen, Production of Recombinant Proteins: Novel Microbial and Eukaryotic Expression Systems (John Wiley & Sons, Marblehead, MA, 2006)에 기술되어 있다. 본원에 기술된 조성물들 및 방법들에 사용하기에 적합한 발현 벡터는 폴리뉴클레오티드 서열, 뿐만 아니라 가령, 단백질의 발현에 이용되는 추가 서열 요소들 및/또는 이들 폴리뉴클레오티드 서열을 포유류 세포의 계놈으로 통합시키는데 필요한 추가 서열 요소들을 함유한다. 본원에 기술된 식유전자의 발현에 사용될 수 있는 특정 벡터에는 유전자 전사를 지시하는 프로모터 및 인핸서 영역과 같은 조절 서열을 함유하는 벡터가 내포된다. 이식유전자의 발현을 위한 다른 유용한 벡터는 이식유전자의 번역 속도를 향상시키거나 유전자 전사로부터 발생하는 mRNA의 안정성 또는 핵 추출을 향상시키는 폴리뉴클레오티드 서열을 함유한다. 이들 서열 요소에는 해당 발현 벡터가 휴대하는 유전자의 효과적인 전사를 지시하기 위해 예를 들면, 5' 및 3' 미해독 영역 그리고 폴리아데닐화 신호생성 부위가 내포될 수 있다. 본원에 기술된 조성물들 및 방법들에 사용하기에 적합한 발현 벡터는 이러한 벡터를 함유하는 세포의 선별용 마커를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 또한 함유할 수 있다. 적합한 마커의 예로는 항생제, 이를 테면, 암피실린, 클로람페니콜, 카나마이신, 또는 나우르세오트리친 (nourseothricin)에 대한 내성을 인코딩하는 유전자들이 내포된다.

[0076] 본원에서 이용된 바와 같이, "전정 지지 세포" 및 "VSC"라는 용어는 전정 유모 세포 발생, 생존, 기능, 사멸 및 식세포작용에 관여하는 내이의 전정계에 있는 특화된 상피 세포의 집합을 의미한다. VSCs는 감각 상피에 고정시키고, 유모 세포 신경 분포에 중요한 신경 영양 인자를 방출함으로써 전정 유모 세포에 구조적 지원을 제공한다.

[0077] 본원에서 이용된 바와 같이, "전정 지지 세포-특이적 발현" 및 "VSC-특이적 발현"이라는 용어는 내이의 다른 세포 유형 (가령, 전정 유모 세포, 달팽이관 유모 세포, 달팽이관 지지 세포, 신경교 또는 기타 내이 세포 유형)과 비교하여, 주로 전정 지지 세포 내에서 RNA 전사체 또는 폴리펩티드의 생산을 의미한다. 이식유전자의 VSC 발현은 내이의 다양한 세포 유형(가령, VSCs 대 비-VSCs 세포) 간의 도입유전자 발현(가령, RNA 또는 단백질 발현)을 비교하여, 임의의 표준 기술(가령, 정량적 RT PCR, 면역조직화학, 웨스턴 블롯 분석 또는 프로모터에 작동 가능하게 연결된 리포터(가령, GFP)의 형광 측정)을 사용하여 확인할 수 있다. VSC-특이적 발현 ("VSC-특이적 프로모터")을 유도하는 프로모터는 다음의 내이 세포 유형들 중 적어도 3개(가령, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 개, 또는 그 이상)와 비교하였을 때, (i) VSCs에서 이에 작동가능하도록 연계된 이식유전자의 발현 (가령, RNA 또는 단백질 발현)을 적어도 50% 이상 (가령, 50%, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200% 이상 또는 그 이상) 유도하고, 또는 (ii) VSCs에서 이에 작동가능하도록 연계된 이식유전자의 발현을 적어도 2-배 이상 (가령, 5-배, 10-배, 50-배, 100-배, 200-배, 300-배, 400-배, 500-배 이상 또는 그 이상)으로 유도한다: 전정 신경절 세포, 전정 기관의 비감각 상피 세포, 전정 기관의 암세포, 전정 기관의 중간엽 세포, 나선형 신경절 세포, 경계

세포, 내부 지골 세포, 내부 기둥 세포, 외부 기둥 세포, 첫 번째 행 다이터(Deiter) 세포, 두 번째 행 다이터 세포, 세 번째 행 다이터 세포, 헨센(Hensen) 세포, 클라우디우스 세포, 내고랑 세포, 외고랑 세포, 나선돌출세포, 뿌리세포, 치간세포, 혈관조의 기저세포, 혈관조의 중간 세포, 혈관조의 가장자리 세포, 내부 유모 세포, 외부 유모 세포, 전정 유모 세포 및 슈반(Schwann) 세포.

[0078] 본원에서 이용된 바와 같이, "야생형(wild-type)"이라는 용어는 주어진 유기체에서 특정 유전자에 대한 빈도가 가장 높은 유전자형을 의미한다.

도면의 간단한 설명

[0079] 도면의 간단한 설명

도 1A-1C는 SLC6A14v2 (서열 식별 번호: 3; 윗줄) 또는 SLC6A14v3 (서열 식별 번호: 1; 아래 줄) 프로모터의 제어 하에 핵 GFP를 인코딩하는 바이러스성 벡터가 형질도입된 성체 마우스 난원낭(utricles)에서 핵 GFP 발현을 비교하는 일련의 단일 평면 공초점 형광 이미지들이다. 지지 세포 핵은 SRY-박스 전사 인자 2(Sox2) 단백질에 대항하여 생성된 항체로 면역라벨되었으며, 유모 세포 핵은 POU 클래스 4 호메오박스 3(Pou4f3) 단백질에 대항하여 생성된 항체로 면역라벨링되었다. 도 1A는 지지 세포 (SC) 핵 층을 나타내며, 도 1B는 유모 세포 (HC) 핵 층을 나타내며, 그리고 도 1C는 간엽성 층을 나타낸다.

도 2A-2D는 SLC6A14v2 (서열 식별 번호: 3) 또는 SLC6A14v3 (서열 식별 번호: 1) 프로모터의 제어 하에 핵 GFP를 인코딩하는 바이러스성 벡터가 형질도입된 성체 마우스 난원낭에서 지지 세포 (도 2A)에서 핵 GFP 발현의 정량화를 나타내는 그래프 (도 2A), 지지 세포에서 핵 GFP 발현의 강도를 나타내는 그래프 (도 2B), 유모 세포에서 핵 GFP 발현의 정량화를 나타내는 그래프(도 2C), 그리고 지지 세포 이외의 기타 모든 세포에서의 정량화를 나타내는 그래프 (도 2D)들이다.

도 3은 플라스미드 P530의 지도다.

도 4는 플라스미드 P919의 지도다.

도 5는 플라스미드 P990의 지도다.

도 6은 플라스미드 P1071의 지도다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0080] 상세한 설명

[0081] 내이의 전정 지지 세포(VSCs)에서 특이적으로 이식유전자 발현을 유도하기 위한 조성물 및 방법이 본원에 기술되어 있다. 본 발명은 VSCs에서 특이적으로 이식유전자를 발현시킬 수 있는 용질 담체 패밀리를 6 구성원 14(SLC6A14) 프로모터의 영역을 함유하는 폴리뉴클레오티드를 특징으로 한다. 본 발명은 또한 폴리펩티드 또는 RNA 분자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드에 작동 가능하게 연결된 전술한 프로모터를 함유하는 핵산 벡터를 특징으로 한다. 본원에 기술된 조성물들 및 방법들을 이용하여 VSCs에서 단백질 (가령, 치료 단백질, 리포터 단백질, 또는 관심대상의 기타 단백질)을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 또는 RNA 분자 (가령, 저해성 RNA 분자)를 발현시켜, 전정 유모세포에 구조적, 영양적 지지를 제공하고, 유모세포로 분화될 수 있으며, 따라서, 본원에 기술된 조성물을 대상체 (이를 테면 포유류 대상체, 예를 들면, 인간)에게 투여하여 전정 유모 세포의 기능장애로 유발되는 장애들, 이를 테면 어지러움, 현기증, 불균형, 양측성 전정병증, 진동시증, 또는 균형 장애를 치료할 수 있다.

[0082] 지지 세포(supporting cells)

[0083] 전정 시스템의 지지 세포는 내이에 있는 특수한 상피 세포다. VSCs는 정상적인 전정 기능에 필요한 중요한 구조, 발달 및 영양 활동을 중재하는 해부학적 및 형태학적으로 균질한 세포 클래스를 구성한다. VSCs는 내이의 난형낭, 구형낭 및 반고리관 내에 위치하며, 균형 감각과 공간 방향 감각에 기여하는 움직임 감각에 관여하는 말초 전정 시스템의 일차 감각 세포다. 전정 와우 신경(vestibulocochlear nerve)에서 유모 세포로의 시냅스 형성은 VSCs에서 분비되는 신경영양인자에 의해 매개되어 적절한 전정 기능의 확립과 유지를 보조한다. 더욱이, VSCs는 세포의 및 세포내 칼슘 신호 전달을 제어하고, 죽거나 또는 죽어가는 유모 세포를 제거하여 감각 상피의 완전성을 유지하는 식세포라고 불리는 식세포 다세포 구조의 형성을 통해 전정 유모 세포 생존, 사멸 및 식세포 제거의 중요한 중재자 역할을 한다. 전정 유모 세포의 손상 및 전정 유모 세포 기능을 방해하는 유

전적 돌연변이는 균형 상실 및 어지러움 (가령, 현기증)과 같은 전정 기능 장애와 관련 있다. 유전자 치료법은 최근 전정 기능 장애를 치료하기 위한 매력적인 치료 접근법으로 등장했다; 그러나 이 분야에는 유전자 치료에 사용되는 핵산 벡터를 전정계의 지지 세포로 표적화하는 방법이 부족하다.

[0084] 본 발명은 부분적으로 SLC6A14가 내이의 VSCs에서 특이적으로 발현된다는 발견에 기초한다. SLC6A14는 내이에 서 발현되는 것으로 이전에 확인되지 않았던 나트륨 및 염화물 의존 방식으로 중성 및 양전하를 띤 아미노산을 모두 운반할 수 있는 나트륨 및 염화물 의존성 신경전달물질 수송체를 코딩하는 유전자다. 본 명세서에 개시된 SLC6A14 프로모터 서열은 내이에서 VSC-특이적 방식으로 유전자 발현을 유도한다. 따라서, 전정 기능장애 (가령, 어지러움, 현기증, 균형감 상실, 양측성 전정병증 (가령, 양측 전정 기능저하), 진동시증, 또는 균형 장애)을 갖는, 또는 이러한 장애 발생 위험에 처한 대상체를 치료하기 위해, 본원에 기술된 조성물들 및 방법들을 이용하여 VSCs 내 관심대상 유전자 (가령, 전정 유모 세포 발생, 전정 유모 세포 운명 상세, 전정 유모 세포 재생, 전정 유모 세포 및/또는 VSC 증식, 전정 유모 세포 신경분포, 또는 전정 유모 세포 성숙에 연류된 유전자, 또는 전정 기능장애를 갖는 대상체에서 파괴된, 가령 돌연변이된 것으로 알려진 유전자)를 발현시킬 수 있다. 세포 유형-특이적 유전자 발현은 표적-외 발현과 관련된 독성을 감소시켜, 유전자 치료의 안전성과 효능을 향상시킬 수 있다.

[0085] 본원에 기술된 조성물들 및 방법들에는 특이적으로 VSCs에서 이식유전자를 발현시킬 수 있는 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터, 또는 이의 변이체, 이를 테면 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 핵산 서열이 내포된다.

[0086] 전술한 핵산 서열은 하기 표 2에서 제공된다.

[0087]

표 2. SLC6A14 프로모터 서열

서열 식별 번호:	프로모터 서열의 설명	프로모터 서열
1	SLC6A14v3 (뮤린 프로모터)	ATACACTTATGTATATGTGCGATGTCAGTGTGTGTGCATAT AAAGTCCCAAACAAGCCTGTATGATATTGACCAACAAGGTC AAGGCAAAGTTTTGATACTTTAGGTCACAACCTCTCCGCA TCCCTCTCTACTTTGCTCTATCTGCCTGAACTCCTGAGGAC ATGTTTCTACTGCAAATGGAAAATCCTTGTGAGCCAGTGAG GAACAAAGGGACTATACATAGATGAAAACCTGGCTCTCTGC TGGTTCCTTTGTTTGTATGAATTTATACAATTTGGTAAACT GCCACCATGTCTTACATGGACAGATTGAGTGTAGATTCTTT GAATTTTTGATGAAGAGGCGCTGCACTGGTGATCGGAATT GCAGTCTTTCCTCTGTAGGTAACCTGGCTTGTTCCTTACA GTTTACTTTCTAGGCCTCGCCTTTCTCACAGAGTGAAGTCC TTTGTTAAGGTTCAATTTCCATAAACCTGCTCAATAATTT GTTGTGTTTGGCTTCTTTGAAATACTACACAAAGCAATCCT TGTAAGGCAAACTATTCCGAAGGCTGAGAAAGGAGCT CCAGGACATAGATTCAAAGTCGCTCTTTTCAGGTAGAGACA GCTGGGTAATCTTATCTTAAGTGGCTACATTTCAAGGTTCC CAATTCAGGGGCTTTCCCTCTGGGAGCAGCATTCTCTCC GGGTGATGAAGAGCTTTCTAGTGAGGAGCAAACTTTTCAG AAAACCGGAGGGGCCAGAGCAGTCTGGTCTGTTCAAAAA ATTATAGCAAAACAAAATAAGCCCGGCGGATTGGGTCTCTCC TACCTCCAGCACCGGGGAGATCAGCACTTGGCCCCAGGA CAGAGACCTGAGAAGTGAGGTTTGGAAGAAGCCAGGAATC CAGGAAAGGAGGCAAGATTGCTAAGGCACCGGCACAGCT CTGAGTCAAAAGTTGTGAGTCTTCTTTGGCTCTGGCTGCGG AGCTCAATTGCTCACAGCCCTGCCCTTTCCTAGGGCTGGG GCAAGGAATTGCTACATTGAGGATTACCTGGGGGAAAAAC CAGAGGCTTGCTTTGGTCCCTTCCGTAATTGAAAGGACT GGCCGTCAGCGAGGGGGAGGAGAGAGCTTCCCTCCATAA ATGGTCCCACCCCTGGGCAAGGTGGCTCACTTTGGCAGGT AGCAACCGGGGAGTGTGCACCTGCCACCAGTCAAGCTCA GCCAGACTGTGAGAAGAGGAGAGGCGAGGCACACCAAGG GATCCAGTGAACCaacGACAGATTGAAGTGCCCGAATTCT TCAAGTGCAGACAGAAGGAGGTAGGGTTCTGGAAGTTTCT GGTGGTGTAGGGGAGTCAGGAAGGGAAAACAAGGAGGGA

[0088]

서열 식별 번호:	프로모터 서열의 설명	프로모터 서열
		GAGTGAGTCTTAGTTTTTGTCTTCTGTAGCTGTTCTTATT TTGCATATTTCTTCTCTTCAACTCTTTCAAGTATGCCTGA TACGTTGTTCTCACGAAGTTGACGTGAAAAACAACCTTCTCT GCTGGTAGTTAGGAACTTAGGAGCACCTCAACCTGTACC TTGAGAACACCCAGAGAATGCTGCTCTTGTCTGTTCTCTAT ACCGTGTTTATATGCTGCAGGGAAATGCAAAGAATGTAAGT TCCTTATCTGACCTGGGAGCATTCCATAGTCAAGCAGCA GCTATCAGGTTGGGAAAGAGCTCCTCTCCAAGGTGTAACA GAAAAGGAAAATGTTGATATTTTCTTGTGTTAGAAAGTGACA GCTTCATCCGAGAAC
3	SLC6A14v2 (인간 프로모터)	AAGCTGGGATGTTTCTCATAGTTTACTTTCTAGGCCTCAT CTTCTTACAGAGTGTGCTCCTTTGTTAAGGTTAGAATTTCC CATAAACCTGCTCAATAATTTGTTGTGTTGGCTTCTTTGA AATACTACACAAAGCAATCCCTGTAAGGCAAGCTGTCC TGAAGGCTGAGAAAGGAGCCTGAGACATAGGCTCCAAGTT GCTCTTTTCAGGCAGAGCCAGCTGGGTAATCTTATCTCAGA TGGCTGCTTTTCAAGGTGCCCAATTCAGGGGCTTTTCTCT GGGAGCAGCATTTGCCCCAGGGAATCAAGTGCTTTCTAGT CAGGGGCAAACTTTGGGAAATCTGAGGACCCAGGGTGGT ATGGTCTGTTTCAAGGAGATTTTGGGGAACAGAATGGCCCC CTTCTCCCTCCAGCACTTGTACAGATCAGCACTTGGCCCCA GAACAGAGACCAGACTGAGAGGCGAGGTTAGGAGGAAAC AGGGGACCCAGGAAAGGCGGCTAGATTGAAACGTACCTA CACAGCTCTGAGTCAAAGGCTGTCTAGTCATCTCGGCTCAG ACTGCTCTGCTCTCCAGCAGCCAGCCCTTTCCAGGGCT GGGGCAGGAGATTGCTACATGTAGGCTTATCTGGGGAAAA ACCAGAGCCTCACTTTAGTCCCTTCCGGAATTGACACTAC TGGACACCCAGGAGGGGGAGGAGAGAGCTTCTCTTCATAA ATGTTCCACCCCTGGGCAAGGTGGCTCACTCTGGCAGGT AGGAACAGGGGAGAGTGCACCTGCTACCAGTCAAGCTCAG CCAGACTGCAAGAGGAGGCGAGGCG

[0089]

[0090]

[0091]

포유류 세포에서 외생성 핵산의 발현

본원에 기술된 조성물들 및 방법들을 이용하여 VSCs에서 관심대상의 단백질을 인코딩하는 핵산 서열에 작동가능하도록 연계된 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드)를 함유하는 핵산 벡터를 투여함으로써, 관심대상의 유전자 (가령, 전정 기능장애에 연루된 유전자의 야생형 형태, 또는 전정 유모 세포 발생, 전정 유모 세포 운명 상세, 전정 유모 세포 재생, 전정 유모 세포 및/또는 VSC 증식, 전정 유모 세포 신경분포, 또는 전정 유모 세포 성숙에 연루된 유전자)에 의해 인코딩된 단백질의 발현을 유도 또는 발현을 증가시킬 수 있다. 포유동물 세포에 단백질을 전달하고, 포유동물 세포에서 단백질을 코딩하는 유전자를 안정적으로 발현시키기 위한 다양한 방법이 확립되었다. 본원에 기술된 조성물 (가령, SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드)에 작동가능하도록 연계된 단백질을 인코딩하는 이식유전자)과 연관되어 발현될 수 있는 단백질은 건강한 VSCs에서 발현되는 단백질 (가령, 전정 유모 세포 발생, 전정 유모 세포 운명 상세, 전정 유모 세포 재생, 전정 유모 세포 및/또는 VSC 증식, 전정 유모 세포 신경분포, 또는 전정 유모 세포 성숙에 있어서 역할을 하는 단백질, 또는 전정 기능장애가 있는 대상체에서 결핍된 단백질), 또는 기타 관심대상의 단백질이다. 본원에 기

술된 조성물들 및 방법들을 이용하여 VSCs에서 발현될 수 있는 단백질에는 스파트 유사 전사 인자 2 (Sal12), 칼모듈린 결합 전사 활성체 1 (Camta1), 헤스 관련된 패밀리를 BHLH 전사 인자 및 YRPW 모티프 2 (Hey2), 가타 결합 단백질 2 (Gata2), 헤스 관련된 패밀리를 BHLH 전사 인자 및 YRPW 모티프 1 (Hey1), 세라미드 합성효소 2 (Lass2), SRY-박스 10 (Sox10), GATA 결합 단백질 3 (Gata3), 컷트 유사 호메오박스 1 (Cux1), 핵 수용체 서브 패밀리 2 그룹 F 구성원 (Nr2f1), 헤스 관련된 패밀리를 BHLH 전사 인자 (Hes1), RAR 관련된 올판 수용체 B (Rorb), Jun(Jun) 프로토-종양유전자 AP-1 전사 인자 하위단위 (Jun), 아연 핑거 단백질 667 (Zfp667), LIM 호메오박스 3 (Lhx3), 네이슨트 헬릭스-루프-헬릭스 1 (Nhlh1), MAX 이량체화 단백질 4 (Mxd4), 아연 핑거 MIZ-유형 함유 1 (Zmiz1), 미엘린 전사 인자 1 (Myt1), 신호 변환기 및 전사 3의 활성체 (Stat3), BarH 유사 호메오박스 1 (Barhl1), 흥선세포 선택 연합된 높은 이동성 그룹 박스 (Tox), 변형 호메오박스 1 (Prox1), 핵 인자 I A (Nfia), 갑상선 호르몬 수용체 베타 (Thrb), MYCL 프로토-종양유전자 BHLH 전사 인자 (Myc11), 리신 탈메틸효소 5A (Kdm5a), CAMP 반응성 요소 결합 단백질 3 유사 4 (Creb3I4), ETS 변이체 1 (Etv1), 부제로 발현된 3 (Peg3), BTB 도메인 및 CNC 상동체 2 (Bach2), ISL LIM 호메오박스 1 (Isl1), 아연 핑거 및 BTB 도메인 함유 38 (Zbtb38), 사지 버드 및 심장 발달 (Lbh), 터비 이분성 전사 인자 (Tub), 유비퀴틴 C (Hmg20), RE1 침묵 전사 인자 (Rest), 아연 핑거 단백질 827 (Zfp827), AF4/FMR2 패밀리 구성원 3 (Aff3), PBX/노티드 1 호메오박스 2 (Pknos2), AT-풍부 상호작용 도메인 3B (Arid3b), MLX 상호작용하는 단백질 (Mlxip), 아연 핑거 단백질 (Zfp532), IKAROS 패밀리 아연 핑거 2 (Ikzf2), 스파트 유사 전사 인자 1 (Sal11), SIX 호메오박스 2 (Six2), 스파트 유사 전사 인자 3 (Sal13), 린-28 상동체 B (Lin28b), 조절 인자 X7 (Rfx7), 뇌 유래된 신경영양성 인자 (Bdnf), 성장 인자 독립적 1 전사적 억제체 (Gfi1), POU 클래스 4 호메오박스 3 (Pou4f3), MYC 프로토-종양유전자 BHLH 전사 인자 (Myc), β -카테닌 (Ctnnb1), SRY-박스 2 (Sox2), SRY-박스 4 (Sox4), SRY-박스 11 (Sox11), TEA 도메인 전사 인자 2 (Tead2), 아토날 BHLH 전사 인자 1 (Atoh1), 그리고 아미노산 328, 331, 및/또는 334에서 치환 (가령, S328A, S331A, S334A, S328A/S331A, S328A/S334A, S331A/S334A, 및 S328A/S331A/S334)을 함유하는 Atoh1 변이체들이 내포된다. 본원에서 기술된 폴리뉴클레오티드 (가령, SLC6A14 프로모터)를 또한 이용하여 VSCs에서 저해성 RNA 분자 (가령, 짧은 헤어핀 RNA (shRNA), 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO)), 뉴클레아제 (가령, CRISPR 연합된 단백질 9 (Cas9), 전사 활성화제-유사 작동체 뉴클레아제 (TALEN), 아연 핑거 뉴클레아제 (ZFN), 또는 가이드 RNA (gRNA)), 또는 마이크로RNA를 발현시킬 수 있다.

[0092] 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 조성물들 및 방법들을 이용하여 VSCs에서 발현되는 단백질은 Atoh1이다. SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드)는 야생형 Atoh1, 또는 이의 변이체, 이를 태면 야생형 포유류 (가령, 인간 또는 마우스) Atoh1의 아미노산 서열 (가령, 서열 식별 번호: 4 또는 서열 식별 번호: 6)에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열에 작동가능하도록 연계될 수 있다. Atoh1 아미노산 및 폴리뉴클레오티드 서열의 예시들이 하기 표 3에 열거된다.

[0093] 일부 구체예들에서, Atoh1 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 서열 식별 번호: 4에 대해 하나 또는 그 이상의 연속 아미노산 치환 (가령, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상 연속 아미노산 치환)을 함유하는 아미노산 서열을 인코딩하며, 단, 상기 인코딩된 Atoh1 유사체가 야생형 Atoh1의 치료기능 (가령, 유모 세포 발생을 개선시키는 능력)을 유지하는 한다는 전제조건이 있다. 상기 Atoh1 단백질의 아미노산들 중 10%를 넘지않는 아미노산이 연속 아미노산 치환으로 대체될 수 있다. 일부 구체예들에서, Atoh1를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 서열 식별 번호: 4를 인코딩하는 유전자 코드의 축중 코드의 임의의 폴리뉴클레오티드 서열이다. Atoh1를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 부분적으로 또는 전적으로 발현 (가령, 인간 VSCs에서)에 대해 코돈-최적화될 수 있다. Atoh1은 서열 식별 번호: 5의 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩될 수 있다. 상기 Atoh1 단백질은 인간 Atoh1 단백질일 수 있거나, 또는 또다른 포유류 중 (가령, 마우스, 쥐, 소, 말, 염소, 양, 당나귀, 고양이, 개, 토끼, 기니피그, 또는 기타 포유류)의 인간 Atoh1 상동체일 수 있다.

[0094]

표 3. Atoh1 서열

서열 식별 번호:	프로모터 서열의 설명	서열
4	인간 Atoh1 아미노산 서열, RefSeq 수탁 번호 NP_005163.1	MSRLLHAEWEAEVKELGDHHRQPQPHLPQPPPPQPPATLQARE HPVYPPELSLLDSTDPRAWLAPTLQGICTARAAQYLLHSPELGASEA AAPRDEV DGRGELVRRSSGGASSSKSPGPVKVREQLCKLKGGVVV DELGCSRQRAPSSKQVNGVQKQRRRLAANARERRRMHGLNHAFDQL RNVIPSFNNDKKLSKYETLQMAQIYINALSELLQTPSGGEQPPPPAS CKSDHHHLRTAASYEGGAGNATAAGAQQASGGSQRPTPPGSCRTR FSAPASAGGYSVQLDALHFSTFEDSALTAMMAQKNLSPSLPGSILQP VQEENSKTSPRSHRSDGEFSPHSYSDSDEAS
5	인간 ATOH1 단백질 코딩 서열, 또한 RefSeq 수탁 번호 NM_005172.2 의 번호로 문서기록됨	ATGTCCCGCCTGCTGCATGCAGAAGAGTGGGCTGAAGTGAAGGA GTTGGGAGACCACCATCGCCAGCCCCAGCCGCATCATCTCCCGC AACCGCCGCCGCCGCCGAGCCACCTGCAACTTTGCAGGCGAGA GAGCATCCCGTCTACCCGCCTGAGCTGTCCCTCCTGGACAGCAC CGACCCACGCGCCTGGCTGGCTCCCACTTTGCAGGGCATCTGCA CGGCACGCGCCGCCAGTATTTGCTACATTCCCGGAGCTGGGT GCCTCAGAGGCCGCTGCGCCCCGGGACGAGGTGGACGGCCGGG GGGAGCTGGTAAGGAGGAGCAGCGCGGTGCCAGCAGCAGCAA GAGCCCCGGGCCGGTGAAAGTGCGGGAACAGCTGTGCAAGCTG AAAGGCGGGGTGGTGGTAGACGAGCTGGGCTGCAGCCGCCAAC GGGCCCTTCCAGCAAACAGGTGAATGGGGTGCAGAAGCAGAGA CGGCTAGCAGCCAACGCCAGGGAGCGGCGCAGGATGCATGGGC TGAACCACGCCTTCGACCAGCTGCGCAATGTTATCCCGTCGTTCA ACAACGACAAGAAGCTGTCCAAATATGAGACCCTGCAGATGGCCC AAATCTACATCAACGCCTTGTCGAGCTGCTACAAACGCCAGCG GAGGGGAACAGCCACCGCCGCTCCAGCCTCCTGCAAAAGCGAC CACCACCACCTTCGACCGCGGCCTCCTATGAAGGGGGCGCGGG CAACGCGACCGCAGCTGGGGCTCAGCAGGCTCCCGAGGGAGC CAGCGGCCGACCCGCCCCGGGAGTTGCCGGA CTGCTTCTCAGC CCCAGCTTCTGCGGGAGGGTACTCGGTGCAGCTGGACGCTCTGC ACTTCTCGACTTTTCGAGGACAGCGCCCTGACAGCGATGATGGCG CAAAAGAATTTGTCTCCTTCTCTCCCCGGGAGCATCTTGCAGCCA GTGCAGGAGGAAAACAGCAAACTTCGCCTCGGTCCCACAGAAG CGACGGGGAATTTCCCCCATTCCCATACAGTGACTCGGATGA GGCAAGT

[0095]

서열 식별 번호:	프로모터 서열의 설명	서열
6	유린 Atoh1 아미노산 서열, UniProt P48985	MSRLLHAEWEAEVKELGDHHRHPQPHVPLTPQPPATLQARDLPV YPAELSLLDSTDPRAWLTPTLQGLCTARAAQYLLHSPELGASEAAAP RDEADSQGELVRRSGCGGLSKSPGPVKVREQLCKLKGGVVVDELG CSRQRAPSSKQVNGVQKQRRLLAANARERRRMHGLNHAFDQLRNVI PSFNNDKKLSKYETLQMAQIYINALSELLQTPNVGEQPPPPTASCKN DHHHLRTASSYEGGAGASAVAGAQPAPGGGPRPTPPGPCRTRFSG PASSGGYSVQLDALHFPAFEDRAL TAMMAQKDLSPSLPGGILQPVQ EDNSKTSPRSHRSDGEFSPHSYSDSDEAS
7	유린 ATOH1 단백질 코딩 서열, 또한 RefSeq 수탁 번호 NM_007500.5 로 또한 문서기록됨	ATGTCCCGCCTGCTGCATGCAGAAGAGTGGGCTGAGGTAAGA GTTGGGGGACCACCATCGCCATCCCCAGCCGACACAGTCCCGC CGCTGACGCCACAGCCACCTGCTACCCTGCAGGCGAGAGACCTT CCCGTCTACCCGGCAGAACTGTCCCTCCTGGATAGCACCGACCC ACGCGCCTGGCTGACTCCCACTTTGCAGGGCCTCTGCACGGCAC GCGCCGCCCAGTATCTGCTGCATTCTCCCGAGCTGGGTGCCTCC GAGGCCGCGGCGCCCCGGGACGAGGCTGACAGCCAGGGTGAGC TGTAAGGAGAAGCGGCTGTGGCGGCCTCAGCAAGAGCCCCGG GCCCGTCAAAGTACGGGAACAGCTGTGCAAGCTGAAGGTGGGG TTGTAGTGGACGAGCTTGGCTGCAGCCGCCAGCGAGCCCCCTCC AGCAAACAGGTGAATGGGGTACAGAAGCAAAGGAGGCTGGCAGC AAACGCAAGGGAACGGCGCAGGATGCACGGGCTGAACCACGCCT TCGACCAGCTGCGCAACGTTATCCCGTCCTTCAACAACGACAAGA AGCTGTCCAAATATGAGACCCACAGATGGCCCAGATCTACATCA ACGCTCTGTCTGGAGTTGCTGCAGACTCCCAATGTCTGGAGAGCAA CCGCCGCGCCACAGCTTCCTGCAAAAATGACCACCATCACCTT CGCACCGCCTCCTCCTATGAAGGAGGTGCGGGCGCCTCTGCGGT AGCTGGGGCTCAGCCAGCCCCGGGAGGGGGCCCGAGACCTACC CCGCCCGGGCCTTGCCGGAAGTCTGCTTCTCAGGCCAGCTTCCTC TGGGGGTTACTCGGTGCAGCTGGACGCTTTCACCTCCAGCCTT CGAGGACAGGGCCCTAACAGCGATGATGGCACAGAAGGACCTGT CGCCTTCGCTGCCCCGGGGGCATCCTGCAGCCTGTACAGGAGGAC AACAGCAAAACATCTCCAGATCCACAGAAGTGACGGAGAGTTT TCCCCCACTCTCATTACAGTGACTCTGATGAGGCCAGT

[0096]

[0097]

관심대상의 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드

[0098]

포유동물 세포에서 관심대상 단백질의 치료적으로 효과적인 세포내 농도를 달성하는 데 사용할 수 있는 한 가지 플랫폼은 관심 단백질을 코딩하는 유전자의 안정적인 발현 (가령, 포유류 세포의 핵이나 미토콘드리아 계층에 통합되거나, 또는 포유류 세포의 핵에서 에피솜 연쇄체 형성에 의해)을 통한 것이다. 상기 유전자는 해당 단백질의 일차 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드다. 외인성 유전자를 포유동물 세포에 도입하기 위해 유전자를 벡터에 통합시킬 수 있다. 벡터는 형질전환, 형질감염, 형질도입, 직접 취입, 발사체 투하, 리포솜에 벡터를 캡슐화하는 방법을 비롯하여, 다양한 방법을 통해 세포에 도입될 수 있다. 세포를 형질감염시키거나 또는 형질전환시키는 적합한 방법의 예로는 인산칼슘 침전, 전기천공, 미세주사, 감염, 리포펙션 및 직접 취입이 내포된다. 이러한 방법은 예를 들면, Green, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Fourth Edition (Cold Spring Harbor University Press, New York 2014); 그리고 Ausubel, et al., Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, New York 2015)에서 상세히 기술되며, 이들 각각의 개시 내용은 본 명세서에 참고자료에 편입된다.

[0099]

관심대상의 단백질을 인코딩하는 유전자를 함유하는 벡터를 세포막 인지질에 표적화시킴으로써 관심 단백질을

포유동물 세포 내로 도입할 수도 있다. 예를 들면, 벡터는 벡터 분자를 모든 세포막 인지질에 친화성을 갖는 바이러스 단백질인 VSV-G 단백질에 연계함으로써, 세포막의 세포의 표면에 있는 인지질을 표적으로 삼을 수 있다. 이러한 구조체는 해당 분야의 숙련자에게 잘 알려진 방법을 사용하여 생산될 수 있다.

[0100] 포유동물 RNA 중합효소에 의한 관심대상 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드의 인지 및 결합은 유전자 발현에 중요하다. 이와 같이, RNA 중합효소를 동원하고, 전사 개시 부위에서 전사 복합체의 어셈블리를 촉진하는 전사 인자들에 대해 높은 친화성을 나타내는 서열 요소들이 해당 폴리뉴클레오티드 내에 내포될 수 있다. 이러한 서열 요소들에는 예를 들어, 포유동물 프로모터가 내포되며, 이의 서열은 특정 전사 개시 인자 및 궁극적으로 RNA 중합효소에 의해 인지되고 결합될 수 있다. 포유류 프로모터의 예시들은 Smith, et al., Mol. Sys. Biol., 3:73, 온라인 공개에서 기술되었으며, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다. 본원에 기술된 방법 및 조성물에서 이용되는 프로모터는 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드)이다.

[0101] 관심대상의 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 포유류 세포의 핵 DNA로 통합된다면, 이 폴리뉴클레오티드의 전사는 당분야에 공지된 방법에 의해 유도될 수 있다. 예를 들면, 포유동물 세포를 외부 화학 시약, 이를테면, 전사 인자 및/또는 RNA 폴리머라제와 포유동물 프로모터의 결합을 조절하여 유전자 발현을 조절하는 작용제에 노출시켜 발현을 유도할 수 있다. 화학 시약은 예를 들어, 프로모터에 결합된 억제성 단백질을 제거함으로써, RNA 중합효소 및/또는 전사 인자가 포유동물 프로모터에 결합하는 것을 촉진하는 역할을 할 수 있다. 대안으로, 화학 시약은 RNA 중합효소 및/또는 전사 인자에 대한 포유동물 프로모터의 친화성을 향상시키는 역할을 할 수 있고, 이 프로모터의 하류에 위치한 유전자의 전사 속도는 화학 시약의 존재 하에 증가된다. 상기 기전에 의해 폴리뉴클레오티드 전사를 강화시키는 화학 시약의 예로는 테트라사이클린 및 독시사이클린이 내포된다. 이들 시약은 상업적으로 이용 가능하며(Life Technologies, Carlsbad, CA) 확립된 프로토콜에 따라 유전자 발현을 촉진하기 위해 포유동물 세포에 투여될 수 있다.

[0102] 본원에 기술된 조성물 및 방법에 사용하기 위해 폴리뉴클레오티드에 포함될 수 있는 다른 DNA 서열 요소에는 인핸서 서열이 내포된다. 인핸서들은 관심대상 유전자를 함유하는 폴리뉴클레오티드의 구조적 변화를 유도하는 또 다른 종류의 조절 요소를 나타내며, DNA는 전사 개시 부위에서 전사 인자와 RNA 중합효소의 결합에 유리한 3-차원 방향을 채택한다. 따라서, 본원에 기술된 조성물 및 방법에 사용하기 위한 폴리뉴클레오티드는 관심대상 단백질을 인코딩하는 것들이 내포되며, 추가적으로 포유동물 인핸서 서열들이 내포된다. 현재 포유류 유전자로부터 많은 인핸서 서열이 알려져 있으며, 그 예로는 포유류 글로빈, 엘라스타제, 알부민, α-태아단백질 및 인슐린을 코딩하는 유전자로부터의 인핸서들이 내포된다. 본 명세서에 기술된 조성물 및 방법에 사용하기 위한 인핸서에는 또한 진핵 세포를 감염시킬 수 있는 바이러스의 유전 물질로부터 유래된 것들이 또한 내포된다. 예로는 복제 원점의 후반부에 있는 SV40 인핸서(bp 100-270), 거대세포바이러스 초기 프로모터 인핸서, 복제 원점의 후반부에 있는 폴리오마 인핸서 및 아데노바이러스 인핸서들이 내포된다. 진핵생물 유전자 전사의 활성화를 유도하는 추가 인핸서 서열에는 CMV 인핸서 및 RSV 인핸서가 내포된다. 인핸서는 관심대상의 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 벡터, 예를 들어, 이 유전자의 5' 또는 3' 위치에 스플라이싱될 수 있다. 바람직한 방향에서, 인핸서는 프로모터의 5' 쪽에 위치하며, 이는 결국 관심대상 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드에 대해 5'에 위치한다.

[0103] 본 명세서에 기술된 SLC6A14 프로모터를 함유하는 핵산 벡터에는 WPRE가 내포될 수 있다. WPRE는 전사체의 핵 추출을 촉진하고 및/또는 초기 전사체의 폴리아데닐화 효율을 증가시켜 세포 내 mRNA의 총량을 증가시킴으로써 mRNA 수준에서 작용한다. 벡터에 WPRE를 추가하면, 시험관 내 및 생체 내에서 여러 가지 다른 프로모터의 이식 유전자 발현 수준이 실질적으로 향상될 수 있다. 본원에서 기술된 조성물 및 방법의 일부 구체예들에서, 상기 WPRE는 다음 서열을 보유한다:

[0104] GATCCAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTT
TGTATCATGTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCATTTTCTCTCCTTGATATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAAC
GTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGTACGCAACCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTA
TTGCCACGGCGGAACATCATCGCCGCTGCTTGCCCGTCTGGACAGGGGCTGGCTGTTGGGCACTGACAATTCGGTGGTGTGTGCGGGAAATCATCGT
CCTTTCTTGGCTGCTCGCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCG
GCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGA (서열 식별 번호: 8).

[0105] 다른 구체예들에서, 상기 WPRE는 다음 서열을 보유한다:

[0106] AATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTTCATTTTCTCCTCCTGTATAAATCCTGGTTAGTTCTTGCCACGGCGGAACATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATCCGTGGTGTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATCTAGCTTTATTTGTGAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCAATTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGGAGATGTGGGAGGTTTTTTAAA (서열 식별 번호: 9).

[0107] 일부 구체예들에서, 본원에서 기술된 SLC6A14 프로모터를 함유하는 핵산 벡터에는 VSCs에서 SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 유전자의 발현을 증명하는데 유용한 리포터 유전자, 또는 이 프로모터의 전정 지지 세포-특이성을 결정하거나 또는 확인하는데 이용될 수 있는 리포터 서열이 내포된다. 이식유전자에 제공될 수 있는 리포터 서열에는 β -락타마제, β -갈락토시다제(LacZ), 알칼리성 포스파타제, 티미딘 키나제, 녹색 형광 단백질(GFP), 클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라제(CAT), 루시퍼라제 및 기타 당업계에 잘 알려진 것을 코딩하는 DNA 서열이 내포된다. 리포터 서열의 발현을 구동시키는 조절 요소, 이를 테면 SLC6A14 프로모터에 연합될 때, 이들 리포터 서열은 효소, 방사선학, 비색법, 형광 또는 기타 분광학 분석, 형광 활성화 세포 분류 분석 및 효소 결합 면역흡착 분석(ELISA), 방사면역분석(RIA) 및 면역조직화학을 포함한 면역학적 분석을 비롯하여, 통상적인 수단으로 검출 가능한 신호를 제공한다. 예를 들면, 마커 서열이 LacZ 유전자인 경우, 신호를 전달하는 벡터의 존재는 β -갈락토시다제 활성 분석을 통해 검출된다. 상기 이식유전자가 녹색 형광 단백질 또는 루시퍼라제인 경우, 신호를 전달하는 벡터는 루미노미터의 색상 또는 빛 생성을 통해 시각적으로 측정될 수 있다.

[0108] 본원에 기술된 조성물 및 방법에 사용하기 위한 핵산 벡터 (예를 들어, AAV 벡터)를 생성하는 데 사용될 수 있는 전달 플라스미드는 표 4에 제공된다. 투여용 핵산 벡터 (가령, AAV 벡터)를 만들기 위해, 전달 플라스미드 (가령, 핵산 벡터에 의해 전달될, 가령, AAV에 의해 전달될 DNA 서열을 함유하는 플라스미드)는 헬퍼 플라스미드 (가령, AAV 제작에 필수적인 단백질을 제공하는 플라스미드) 및 rep/cap 플라스미드 (가령, AAV 캡시드 단백질 및 이 캡시드 껍질로 전달 플라스미드 DNA 서열을 삽입시키기 위한 단백질을 제공하는 플라스미드)와 함께 생산자 세포로 공동-운반될 수 있다. 표 4에 제공된 전달 플라스미드를 이용하여 이식유전자, 이를 테면 Atoh1 (뮤린 (서열 식별 번호: 11) 또는 인간 (서열 식별 번호: 10) Atoh1)를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 또는 GFP (서열 식별 번호: 2)를 폴리뉴클레오티드에 작동가능하도록 연계된 SLC6A14 프로모터를 함유하는 핵산 벡터 (가령, AAV 벡터)를 만들 수 있다.

[0109] 표 4. 전달 플라스미드

서열 식별 번호.	설명	플라스미드 서열
2	플라스미드 P919 위치 1-130 에서 5' ITR 위치 219-1977 에서 SLC6A14v3 프로모터 위치 1992-2369 에서 H2B 서열 위치 2388-3107 에서 eGFP 서열 위치 3116-3663 에서 WPRE 위치 3748-3955 에서 polyA 위치 4043-4172 에서 3' ITR	CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGC CCGGGCGTCGGGCGACCTTTTGGTCGCCCGGCCCTCAGTGAG CGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGGCCAACTCCATCACT AGGGGTTCTTGTAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTA TCTACGTAGCCATGCTCTAGGAAGATCGGAATTCGCCCTTAA GCTAGCGGCGCGCCATACACTTATGTATATGTGCGATGTCA GTGTGTGTGCATATAAAGTCCCAAACAAGCCTGTATGATATT GACCAACAAGGTCAAGGCAAAGTTTTGATACTTTCAGGTCAC AACCTCTCCGCATCCCTCTCTACTTTTGCTCTATCTGCCTGAA CTCCTGAGGACATGTTTCTACTGCAAATGGAAAATCCTTGTC AGCCAGTGAGGAACAAAGGACTATACATAGATGAAAATTG GCTCTCTGCTGGTTCCCTTTGTTGTATGAATTTATACAATTTG GTAAAACTGCCACCATGTCTTACATGGACAGATTGAGTGATG ATTCTTTGAATTTTGTATGAAGAGGCGCTGCACTGGTGATCG GAATTGCAGTCTTTCCTCTGTAGGTAACCTGGCTTGTTTCCTT ACAGTTTACTTTCTAGGCCTCGCCTTTCTCACAGAGTGAAGT CCTTTGTTAAGGTTTCAATTTCCATAAACCTGCTCAATAATT TGTTTGTGTTTGGCTTCTTTGAAATACTACACAAAGCAATCCT TGTAAGGCAAACTATTCCGAAGGCTGAGAAAGGAGCTC CAGGACATAGATTCAAAGTCGCTCTTTTCAGGTAGAGACAGC TGGGTAATCTTATCTTAACTGGCTACATTTCAAGGTTCCCAAT TCAGGGGCTTTCCCTCTGGGAGCAGCATTCTCTCGGGTG ATGAAGAGCTTTCTAGTGAGGAGCAAACTTTTCAGAAAACCG GAGGGCCCAGAGCAGTCTGGTCTGTTCAAAAAATTATAGCA AACAAAATAAGCCCGCGGATTGGGTCTCTCCTACCTCCAG CACCAGGGGAGATCAGCACTTGGCCCCAGGACAGAGACCT GAGAAAGTGAGGTTTGAAGAAGCCAGGAATCCAGGAAAGGA GGCAAGATTGCTAAGGCACCGGCACAGCTCTGAGTCAAAAG TTGTCAGTCTTCTTTGGCTCTGGCTGCGGAGCTCAATTGCTC ACAGCCCTGCCCTTTCCTAGGGCTGGGGCAAGGAATTGCTA CATTGAGGATTACCTGGGGGAAAAACCAGAGGCTTGCTTTG GTCCCTTCCGTAATTGAAAGGACTGGCCGTCAGCGAGGGG GAGGAGAGAGCTTCCCTCCATAAATGGTCCCACCCCTGGGC AAGGTGGCTCACTTTGGCAGGTAGCAACCGGGGAGTGTGCA CCTGCCACCAAGTCAAGCTCAGCCAGACTGTGAGAAGAGGAG AGGCGAGGCACACCAAGGATCCAGTGAACCAACGACAGAT TGAAGTGCCCGAATCTTCAAGTGCAGACAGAAGGAGGTA

[0110]

서열 식별 번호.	설명	플라스미드 서열
		GGGTTCTGGAAGTTTCTGGTGGTGTAGGGGAGTCAGGAAGG GAAAACAAGGAGGGAGAGTGAGTCTTAGTTTTTGGCTTTCTG TAGCTGTTCTTATTTTGCATATTTCTTCTCTCAACTCTTTT CAAGTATGCCTGATACGTTGTTCTCACGAAGTTGACGTGAAA AACAACTTTCTGCTGGTAGTTAGGAACTTAGGAGCACCTC AACCTGTACCTTGAGAACCCAGAGAATGCTGCTCTTTGTC GTTCTCTATACCGTGTTCATATGCTGCAGGAAATGCAAAGA ATGTACTGTCTTATCTGACCCTGGGAGCATTCCATAGTCAA GCAGCAGCTATCAGGTTGGGAAAGAGCTCCTCTCCAAGGTG TAACAGAAAAGGAAAATGTTGATATTTTCTTGTTAGAAAAGT GACAGCTTCATCCGAGAACGCGGCCGCCACCATGCCAGA GCCAGCGAAGTCTGCTCCCGCCCCGAAAAAGGGCTCCAAGA AGGCGGTGACTAAGGCGCAGAAGAAAGGCGGCAAGAAGCG CAAGCGCAGCCGCAAGGAGAGCTATTCCATCTATGTGTACA AGGTTCTGAAGCAGGTCCACCCTGACACCGGCATTTCTGCC AAGGCCATGGGCATCATGAATTCGTTTGTGAACGACATTTTC GAGCGCATCGCAGGTGAGGCTTCCCGCTGGCGCATTACAA CAAGCGCTCGACCATCACCTCCAGGGAGATCCAGACGGCCG TGCGCTGCTGCTGCCTGGGAGTTGGCCAAGCACGCCGT GTCCGAGGGTACTAAGGCCATCACCAGTACACCGCGCTA AGGATCCACCGGTCGCCACCATGGTGAGCAAGGCGAGGA GCTGTTCAACCGGGTGGTGCCCATCCTGGTCGAGCTGGAC GGCGACGTAAACGGCCACAAGTTAGCGTGTCCGGCGAGG GCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTC ATCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCGTGGCCCTGGCCACCCT CGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCACTGCTTACGCCGT ACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCC ATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAA GGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTC GAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCA TCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTG GAGTACAACCTACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGAC AAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACCTCAAGATCCGCCA CAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACC AGCAGAACACCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCC CGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAG ACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCCTGCTGGAGTTC GTGACCGCCGCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTA CAAGTAATAAGCTTGGATCCAATCAACCTCTGGATTACAAAAT

[0111]

서열 식별 번호	설명	플라스미드 서열
		TTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATGTTGCTCCTTTT ACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCT ATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGATAAAT CCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCA GGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACC CCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTC CGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAAC TCATCGCCGCCGTGCCCTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCG GCTGTTGGGCACTGACAATCCGTGGTGTGTCGGGGAAAT CATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGA TTCTGCGCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTC AATCCAGCGGACCTTCTTCCCGCGGCTGCTGCCGGCTCT GCGGCCTCTTCCGCGCTTTCGAACAATTGCATCGGACACAT CTTGGCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGTT ACCCAACTTAAGATCTGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCA GCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTTCTTGACCT GGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGA AATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGG GGGTGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGA AGACAATAGCAGGCATGCTGGGGAAGTGAAGGCGGAA TTCCCGATAAGGATCTTCTAGAGCATGGCTACGTAGATAAG TAGCATGGCGGGTTAATCATTAACTACAAGGAACCCCTAGTG ATGGAGTTGGCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCAC TGAGGCCGGGCGACCAAAGGTGCGCCGACGCGCGGCTTT GCGCGGGCGGCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGAGCCTTA ATTAACCTAATCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACT GGGAAAACCTGGCGTTACCCAACCTAATCGCCTTGCAAGCA CATCCCCCTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCG CACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCG AATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAGCGCGGCGGG TGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCG CCCTAGCGCCCGCTCCTTTCGCTTTCCTTCCCTTCTCTCG CCACGTTGCGCGGCTTTCCTCGTCAAGCTCTAAATCGGGGG CTCCCTTAGGGTTCGATTAGTGCTTTACGGCACCTCGAC CCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCA TCGCCCTGATAGACGTTTTTCGCCCTTGACGTTGGAGTCC ACGTTCCTTAATAGTGGACTCTGTTCCAACTGGAACAACA CTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTGATTTATAAGGGATT TGCCGATTTGCGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAAC

[0112]

서열 식별 번호.	설명	플라스미드 서열
		AAAAATTTAACGCGAATTTTAAACAAATATTAACGCTTACAATT TAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATT TGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAG ACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAG AGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTT TTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTGCTCAGCCAGAAACGC TGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGA GTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTT GAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACT TTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGAC GCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGATACACTATTCTCA GAATGACTTGTTGAGTACTACCAAGTCACAGAAAAGCATCT TACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCAT AACCATGAGTGATAAAGTGCAGGCAACTTACTTCTGACAAC GATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACA TGGGGGATCATGTAAGTGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAG CTGAATGAAGCCATACCAACGACGAGCGTGACACACGAT GCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAAGTGG CGAACTACTTACTTAGCTTCCCGGCAACAATTAAGACTG GATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGG CCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCG GTGAGCGTGGGTCTGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCA GATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGG GAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTG AGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAAGTGTAGACC AAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTT TAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTGTAAATCTCA TGACCAAAATCCCTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGT CAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTT TTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACAC CGCTACCAGCGGTGGTTTGTGCGCGATCAAGAGCTACCA ACTCTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATA CCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCAC TTCAAGAACTCTGTAGCAGCGCTACATACCTCGCTCTGCTA ATCCTGTTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTG TCTTACCGGGTTGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGG CGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCC CAGCTTGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTAC AGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGA

[0113]

서열 식별 번호	설명	플라스미드 서열
		AAGGCGGACAGGTATCCGGAAGCGGCAGGGTCGGAACAG GAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAACGCCTGGTA TCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCG TCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGA AAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTACGGTTCCTGGCCTTTT GCTGGCCTTTTGTACATGTTCTTCTGCGTTATCCCCTG ATTCTGTGGATAACCGTATTACGCGCTTTGAGTGAGCTGATA CCGCTCGCCGACGCCAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGT GAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCT CTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCAATATGCAGCTGGCACGA CAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAA TTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTAC ACTTTATGCTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCG GATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG CCAGATTTAATTAAGGCCTTAATTAGG
10	플라스미드 P990 위치 1-130 에서 5' ITR 위치 219-1977 에서 SLC6A14v3 프로모터 위치 1992-3053 에서 인간 Atoh1 서열 위치 3064-3611 에서 WPRE 위치 3624-3831 에서 polyA 위치 3919-4048 에서 3' ITR	CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCCGGGCAAAGC CCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAG CGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGCCAACTCCATCACT AGGGGTTCCCTTGATGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTA TCTACGTAGCCATGCTCTAGGAAGATCGGAATTCGCCCTTAA GCTAGCGGCGCGCCATACACTTATGTATATGTGCGATGTCA GTGTGTGTGCATATAAAGTCCCAAACAAGCCTGTATGATATT GACCAACAAGGTCAAGGCAAAGTTTTGATACTTTCAGGTCAC AACCTCTCCGCATCCCTCTCTACTTTGCTCTATCTGCCTGAA CTCCTGAGGACATGTTTCTACTGCAAATGAAAATCCTTGTC AGCCAGTGAGGAACAAAGGGACTATACATAGATGAAAACCTG GCTCTCTGCTGGTTCCTTTGTTGTATGAATTTATACAATTTG GTAAACTGCCACCATGTCTTACATGGACAGATTGAGTGATG ATTCTTTGAATTTTGTATGAAGAGGCGCTGCACTGGTGATCG GAATTGCAGTCTTTCCTCTGTAGGTAACCTGGCTTGTTTCCTT ACAGTTTACTTTCTAGGCCTCGCCTTTCTCACAGAGTGAAGT CCTTTGTAAAGGTTCAATTTCCATAAACCTGCTCAATAATT TGTTTGTTGGCTTCTTTGAAATACTACACAAAGCAATCCT TGTAAGGCAAACTATTCCGAAGGCTGAGAAAGGAGCTC CAGGACATAGATTCAAAGTCGCTCTTTTCAGGTAGAGACAGC TGGGTAATCTTATCTTAAGTGGCTACATTTCAAGGTTCCCAAT TCAGGGGCTTTCCCTCTGGGAGCAGCATTCTCCGGGTG ATGAAGAGCTTTCTAGTGAGGAGCAAACTTTCAGAAAACCG GAGGGCCAGAGCAGTCTGGTCTGTTCAAAAAATTATAGCA

[0114]

서열 식별 번호.	설명	플라스미드 서열
		AACAAAATAAGCCCGCGGATTGGGTCTCTCCTACCTCCAG CACCAGGGGAGATCAGCACTTGGCCCCAGGACAGAGACCT GAGAAGTGAGGTTTGAAGAAGCCAGGAATCCAGGAAAGGA GGCAAGATTGCTAAGGCACCGGCACAGCTCTGAGTCAAAAG TTGTCACTCTTTTGGCTCTGGCTGCGGAGCTCAATTGCTC ACAGCCCTGCCCTTTCTAGGGCTGGGGCAAGGAATTGCTA CATTCAAGATTACCTGGGGGAAAAACCAGAGGCTTGCTTTG GTCCCTTCCGTAATTGAAGGACTGGCCGTCAGCGAGGGG GAGGAGAGAGCTTCCCTCCATAAATGGTCCACCCCTGGGC AAGGTGGCTCACTTTGGCAGGTAGCAACCGGGGAGTGTGCA CCTGCCACCACTCAAGCTCAGCCAGACTGTGAGAAGAGGAG AGGCGAGGCACACCAAGGGATCCAGTGAACCAACGACAGAT TGAAGTGCCCGAATCTTCAAGTGCAGACAGAAAGGAGGTA GGGTTCTGGAAGTTTCTGGTGGTGTAGGGGAGTCAGGAAGG GAAAACAAGGAGGGAGAGTGAGTCTTAGTTTTTGTCTTCTG TAGCTGTTCTTATTTGCATATTTCTTCTCTCAACTCTTTT CAAGTATGCCTGATACGTTGTTCTACGAAGTTGACGTGAAA AACAACTTTCTGCTGGTAGTTAGGAACTTAGGAGCACCTC AACCTGTACCTTGAGAACCCAGAGAATGCTGCTCTTTGTC GTTCTCTATACCGTGTTCATATGCTGCAGGGAATGCAAGA ATGTAAGTGTCTTATCTGACCTGGGAGCATTCCATAGTCAA GCAGCAGCTATCAGGTTGGGAAAGAGCTCCTCTCAAGGTG TAACAGAAAAGGAAAATGTTGATATTTTCTGTTTAGAAAGT GACAGCTTCATCCGAGAACGCGGCCGCGCCACCATGTCCCG CCTGCTGCATGCAGAAGAGTGGGCTGAAGTGAAGGAGTTGG GAGACCACCATCGCCAGCCCCAGCCGCATCATCTCCGCAA CCGCCGCCGCCGCCGAGCCACCTGCAACTTTGCAGGCGA GAGAGCATCCCGTCTACCCGCCTGAGCTGTCCCTCCTGGAC AGCACCGACCCACGCGCCTGGCTGGCTCCCACTTTGCAGG GCATCTGCACGGCACGCGCCGCCAGTATTTGCTACATTCC CCGGAGCTGGGTGCCTCAGAGGCCGCTGCGCCCCGGGACG AGGTGGACGGCCGGGGGAGCTGGTAAGGAGGAGCAGCG GCGGTGCCAGCAGCAGCAAGAGCCCCGGGCCGGTGAAAGT GCGGGAACAGCTGTGCAAGCTGAAAGGCGGGGTGGTGGTA GACGAGCTGGGCTGCAGCCGCCAACGGGCCCTTCCAGCA AACAGGTGAATGGGGTGCAGAAAGCAGAGACGGCTAGCAGC CAACGCCAGGGAGCGGCGCAGGATGCATGGGCTGAACCAC GCCTTCGACCAGCTGCGCAATGTTATCCCGTCGTTCAACAAC GACAAGAAGCTGTCCAAATATGAGACCCTGCAGATGGCCCA

[0115]

서열 식별 번호.	설명	플라스미드 서열
		AATCTACATCAACGCCTTGTCCGAGCTGCTACAAACGCCAG CGGAGGGGAACAGCCACCGCCGCTCCAGCCTCCTGCAA AGCGACCACCACCACCTTCGCACCGCGGCTCCTATGAAGG GGGCGCGGGCAACGCGACCGCAGCTGGGGCTCAGCAGGCT TCCGGAGGGAGCCAGCGGCCGACCCGCGCGGGAGTTGCC GGACTCGCTTCTCAGCCCCAGCTTCTCGGGAGGGTACTCG GTGCAGCTGGACGCTCTGCACCTCTCGACTTTCGAGGACAG CGCCTGACAGCGATGATGGCGCAAAGAATTTGTCTCCTTC TCTCCCCGGGAGCATCTTGCAGCCAGTGCAGGAGGAAAACA GCAAAACTTCGCCTCGGTCCCACAGAAGCGACGGGGAATTT TCCCCCATTCCTTACAGTGACTCGGATGAGGCAAGTTAG AAGCTTGGATCCAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAA GATTGACTGGTATTCTTAACATGTTGCTCCTTTACGCTATG TGGATACGCTGCTTTAATGCCCTTGTATCATGCTATTGCTTC CGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCTGTATAAATCCTGGTTGC TGCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCGTTGTCAGGCAACGTG GCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCACTGGT TGGGGCATTGCCACCACCTGTGAGCTCCTTTCCGGGACTTT CGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACTCATCGCCG CCTGCCTTGCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGG CACTGACAATTCCGTGGTGTGTCGGGGAATCATCGTCCTT TCCTTGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCG GGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCG GACCTTCCTTCCCGCGGCTGCTGCCGCTCTGCGGCCTCT TCCGCGCTTCGAGATCTGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGC CAGCCATCTGTTGTTGCCCTCCCCCGTGCCTTCCTTGACC CTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAG GAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTG GGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGG GAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGACTCGAGTTAAGGGCG AATCCCGATAAGGATCTTCTAGAGCATGGCTACGTAGATA AGTAGCATGGCGGGTTAATCATTAACTACAAGGAACCCCTAG TGATGGAGTTGGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTC ACTGAGGCCGGGCGACCAAAGTCCCGACGCCCGGGCT TTGCCCGGGCGGCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCCT TAATTAACCTAATTCAGTGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGA CTGGGAAAACCTGGCGTTACCAACTTAATCGCCTTGACG CACATCCCCCTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCC CGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGG

[0116]

서열 식별 번호	설명	플라스미드 서열
		CGAATGGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCG GGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAG CGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTCCCTTCCTTTCT CGCCACGTTGCGCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGG GGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCG ACCCAAAAAAATTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGC CATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTGACGTTGGAGT CCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAACTGGAACAA CACTCAACCCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTATAAGGGAT TTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAA CAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAA TTTAGGTGGCACTTTTCGGGGAATGTGCGCGGAACCCCTA TTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG AGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATTTGAAAAAGGA AGAGTATGAGCCATATTCAACGGGAAACGTCGAGGCCGCGA TTAAATCCAACATGGATGCTGATTATATGGGTATAAATGGG CTCGCGATAATGTGCGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGC TTGTATGGGAAGCCCGATGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACAT GGCAAAGGTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGT CAGACTAACTGGCTGACGGAATTTATGCCTCTTCCGACCAT CAAGCATTTTATCCGTACTCCTGATGATGCATGGTTACTCAC CACTGCGATCCCCGGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGA ATATCCTGATTGAGGTGAAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGT GTTCCTGCGCCGGTTGCATTCGATTCTGTTTGTAAATTGTCC TTTTAACAGCGATCGCGTATTTTCGTCTTGCTCAGGCGCAATC ACGAATGAATAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGA CGAGCGTAATGGCTGGCCTGTTGAACAAGTCTGGAAAGAAA TGCATAAACTTTTGCCATTCTCACCGGATTCAGTCGCTCACTC ATGGTGATTTCTCACTTGATAACCTTATTTTACGAGGGGAA ATTAATAGGTTGTATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGA CCGATACCAGGATCTTGCCATCCTATGGAAGTGCCTCGGTG AGTTTTCTCCTTCATTACAGAAACGGCTTTTCAAAAATATGG TATTGATAATCCTGATATGAATAAATGCAGTTTCATTTGATG CTCGATGAGTTTTCTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATA TACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTAAATTTAAAGGATC TAGGTGAAGATCCTTTTGTATAATCTCATGACCAAAATCCCTT AACGTGAGTTTTTCGTTCCTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAA AGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAAT CTGCTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCAGCGGTGG

[0117]

서열 식별 번호.	설명	플라스미드 서열
		TTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTCCGAAGG TAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAACTGTTCTTC TAGTGTAAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAG CACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGG CTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTACCGGGTTGGAC TCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTG AACGGGGGGTTCTGTCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACG ACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAA AGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATC CGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGA GCTTCCAGGGGAAACGCTGCTATCTTTATAGTCTGTGCG GGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTGTGATGCT CGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGC GGCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGTGCGCTTTTGTCTCA CATGTTCTTTCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCG TATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGAGCC GAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGA AGAGCGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCGCGCGTTGGC CGATTCAATATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCGACTGG AAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCT CACTCATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGC TCGTATGTTGTGTGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACAC AGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAGATTTAATTAAGG CCTTAATTAGG
11	플라스미드 P1071 위치 1-130 에서 5' ITR 위치 219-1977 에서 SLC6A14v3 프로모터 위치 1992-3044 에서 유린 Atoh1 서열	CTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCGCCGGGCAAAGC CCGGGCGTCGGGCGACCTTTGGTCGCCCGGCCTCAGTGAG CGAGCGAGCGCGCAGAGAGGGAGTGCCAACTCCATCACT AGGGGTTCCCTTGAGTTAATGATTAACCCGCCATGCTACTTA TCTACGTAGCCATGCTCTAGGAAGATCGGAATTCGCCCTTAA GCTAGCGGCGCGCCATACACTTATGTATATGTGCGATGTCA GTGTGTGTGCATATAAAGTCCCAAACAAGCCTGTATGATATT GACCAACAAGGTCAAGGCAAAGTTTTGATACTTTCAGGTCAC AACCTCTCCGCATCCCTCTCTACTTTGCTCTATCTGCCTGAA CTCCTGAGGACATGTTTCTACTGCAAATGGAAAATCCTTGTC AGCCAGTGAGGAACAAAGGGACTATACATAGATGAAAATTG GCTCTCTGCTGTTCTTTGTTTGTATGAATTTATACAATTTG GTAAAATGCGACCATGTCTTACATGGACAGATTGAGTGTAG ATTCTTTGAATTTTGTATGAAGAGGCGCTGCACTGGTGATCG GAATTGCAGCTTTCTCTGTAGGTAACCTGGCTTGTTTCCTT

[0118]

서열 식별 번호	설명	플라스미드 서열
	위치 3055-3602 에서 WPRE 위치 3615-3822 에서 polyA 위치 3910-4039 에서 3' ITR	ACAGTTTACTTTCTAGGCCTCGCCTTTCTCACAGAGTGAAGT CCTTTGTTAAGGTTTCAATTTCCATAAACCTGCTCAATAATT TGTTTGTTTGGCTTCTTTGAAATACTACACAAAGCAATCCT TGTAAGGCAAACTATTCCGAAGGCTGAGAAAGGAGCTC CAGGACATAGATTCAAAGTCGCTCTTTTCAGGTAGAGACAGC TGGGTAATCTTATCTTAAGTGGCTACATTTCAAGGTTCCCAAT TCAGGGGCTTTCCCTCTGGGAGCAGCATTCTCTCGGGTG ATGAAGAGCTTTCTAGTGAGGAGCAAACTTTGAGAAACCG GAGGGCCAGAGCAGTCTGGTCTGTTCAAAAAATTATAGCA AACAAATAAGCCCGCGGATTGGGTCTCTCTACCTCCAG CACCAGGGGAGATCAGCACTTGGCCCCAGGACAGAGACCT GAGAAAGTGAAGTTTGAAGAAGCCAGGAATCCAGGAAGGA GGCAAGATTGCTAAGGCACCGGCACAGCTCTGAGTCAAAAG TTGTCAGTCTTCTTTGGCTCTGGCTGCGGAGCTCAATTGCTC ACAGCCCTGCCCTTTCTAGGGCTGGGGCAAGGAATTGCTA CATTGAGATTACCTGGGGGAAAAACAGAGGCTTGCTTTG GTCCCTTCCGGTAATTGAAGGACTGGCCGTCAGCGAGGGG GAGGAGAGAGCTTCCCTCCATAATGGTCCCACCCCTGGGC AAGGTGGCTCACTTTGGCAGGTAGCAACCGGGGAGTGTGCA CCTGCCACCACTCAAGCTCAGCCAGACTGTGAGAAGAGGAG AGGCGAGGCACACCAAGGGATCCAGTGAACCAACGACAGAT TGAAGTGCCCGAACTTCTTCAAGTGACAGACAGAAGGAGGTA GGGTTCTGGAAGTTTCTGGTGGTGTAGGGGAGTCAGGAAGG GAAACAAGGAGGGAGAGTGAAGTCTTATTTTTGCTTTCTG TAGCTGTTCTTATTTTGCATATTTCTTTCTTCAACTCTTTT CAAGTATGCCTGATACGTTGTTCTCACGAAGTTGACGTGAAA AACAACTTTCTGCTGGTAGTTAGGAACTTAGGAGCACCTC AACCTGTACCTTGAGAACCCAGAGAATGCTGCTCTTTGTC GTTCTCTATACCGTTTCATATGCTGCAGGGAAATGCAAAGA ATGTAAGTGTCTTATCTGACCCTGGGAGCATTCCATAGTCAA GCAGCAGCTATCAGGTTGGGAAAGAGCTCCTCTCCAAGGTG TAACAGAAAAGGAAAATGTTGATATTTTCTGTTTAGAAAGT GACAGCTTCATCCGAGAACGCGGCCGCGCCACCATGTCCCG CCTGCTGCATGCAGAAGAGTGGGCTGAGGTAAAGAGTTGG GGGACCACCATCGCCATCCCCAGCCGACACGTCCTCGCC GCTGACGCCACAGCCACCTGCTACCCTGCAGGCGAGAGAC CTTCCGCTCTACCCGCGAGAACTGTCCCTCCTGGATAGCAC CGACCCACGCGCCTGGCTGACTCCCACTTTGCAGGGCCTCT GCACGGCACGCGCGCCCGCAGTATCTGCTGCATTCTCCGAG

[0119]

서열 식별 번호.	설명	플라스미드 서열
		CTGGGTGCCTCCGAGGCCGCGGCGCCCCGGGACGAGGCT GACAGCCAGGGTGAGCTGGTAAGGAGAAGCGGCTGTGGCG GCCTCAGCAAGAGCCCCGGGCCCCGTCAAAGTACGGGAACA GCTGTGCAAGCTGAAGGGTGGGTTGTAGTGGACGAGCTTG GCTGCAGCCGCCAGCGAGCCCCCTTCAGCAAACAGGTGAAT GGGGTACAGAAGCAAAGGAGGCTGGCAGCAAACGCAAGGG AACGGCGCAGGATGCACGGGCTGAACCAAGCCTTCGACCA GCTGCGCAACGTTATCCCGTCTTCAACAACGACAAGAAGCT GTCCAAATATGAGACCCTACAGATGGCCCAGATCTACATCAA CGCTCTGTCGGAGTTGCTGCAGACTCCCAATGTCGGAGAGC AACCGCCGCCGCCACAGCTTCTGCAAAAATGACCACCAT CACCTTCGCACCGCCTCCTCCTATGAAGGAGGTGCGGGCGC CTCTGCGGTAGCTGGGGCTCAGCCAGCCCCGGGAGGGGGC CCGAGACCTACCCCGCCCGGGCCTTGCCGGAAGTCTGCTCTC AGGCCAGCTTCTCTGGGGTACTCGGTGCAGCTGGACG CTTGCACTTCCCAGCCTTCGAGGACAGGGCCCTAACAGCG ATGATGGCACAGAAGGACCTGTGCGCTTCGCTGCCCGGGG GCATCCTGCAGCCTGTACAGGAGGACAACAGCAAAACATCT CCCAGATCCACAGAAGTGACGGAGAGTTTTCCCCCACTC TCATTACAGTGAAGTCTGATGAGGCCAGTTAGAAGCTTGGATC CAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAGATTGACTGGT ATTCTTAAGTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGATACGCTG CTTTAATGCCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTT CATTTTCTCCTCCTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTAT GAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGT GCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCACTGGTTGGGGCATT GCCACCACCTGTCAGCTCCTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCC CTCCCTATTGCCACGGCGGAAGTATCGCCGCTGCCTTGC CCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATT CCGTGGTGTGTCGGGGAAATCATCGTCTTTCCTTGGCTG CTCGCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTT CTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTC CCGCGGCCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCCTTCCGCGTCTTC GAGATCTGCCTCGACTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGT TGTTTGCCCTCCCCCGTGCCTTCTTGACCCTGGAAGGTG CCACTCCCACTGTCCTTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCAT CGCATTGTCTGAGTAGGTGTATTCTATTCTGGGGGGTGGG GTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATA GCAGGCATGCTGGGGACTCGAGTTAAGGGCGAATTCCTCGAT

[0120]

서열 식별 번호.	설명	플라스미드 서열
		AAGGATCTTCCTAGAGCATGGCTACGTAGATAAGTAGCATGG CGGGTTAATCATTAACTACAAGGAACCCCTAGTGATGGAGTT GGCCACTCCCTCTCTGCGCGCTCGCTCGCTCACTGAGGCCG GGCGACCAAAGGTCGCCCGACGCCGGGCTTTGCCCGGGC GGCCTCAGTGAGCGAGCGAGCGCGCAGCCTTAATTAACCTA ATTCAGTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACC CTGGCGTTACCCAACCTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTT TCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCG CCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGACG CGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGCGGGGTGTGGTGGT TACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGC CCGCTCCTTTTCGCTTTCTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTCTG CCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTA GGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAAA CTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTG ATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTT TAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCC TATCTCGGTCTATTCTTTGATTATAAGGGATTTTGCCGATT TCGGCCTATTGGTTAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTA ACGCGAATTTTAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAGGTGGC ACTTTTCGGGGAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTATTT TTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAAC CCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGA GCCATATTCAACGGGAAACGTCGAGGCCGCGATTAAATTCC AACATGGATGCTGATTTATATGGGTATAAATGGGCTCGCGAT AATGTCGGGCAATCAGGTGCGACAATCTATCGCTTGATGG GAAGCCCAGTGCGCCAGAGTTGTTTCTGAAACATGGCAAAG GTAGCGTTGCCAATGATGTTACAGATGAGATGGTCAGACTAA ACTGGCTGACGGAAATTTATGCCTCTCCGACCATCAAGCATT TTATCCGTACTCCTGATGATGCATGGTTACTCACCCTGCGA TCCCCGGAAAAACAGCATTCCAGGTATTAGAAGAAATCCTG ATTCAGGTGAAAAATATTGTTGATGCGCTGGCAGTGTTCTGC GCCGGTTGCATTGATTCTGTTTGTAATTGTCCTTTTAACAG CGATCGCGTATTTCTGCTTGCTCAGGCGCAATCACGAATGAA TAACGGTTTGGTTGATGCGAGTGATTTTGATGACGAGCGTAA TGGCTGGCCTGTTGAACAAGTCTGAAAGAAATGCATAAACT TTTGCCATTCTACCGGATTCAAGTCGTCACTCATGGTGATTT CTCACTTGATAACCTTATTTTGACGAGGGGAAATTAATAGGT TGTAATTGATGTTGGACGAGTCGGAATCGCAGACCGATACCA

[0121]

서열 식별 번호.	설명	플라스미드 서열
		GGATCTTGCCATCCTATGGAAGTGCCTCGGTGAGTTTTCTCC TTCATTACAGAAACGGCTTTTTCAAAAATATGGTATTGATAAT CCTGATATGAATAAATTGCAGTTTCATTTGATGCTCGATGAGT TTTTCTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATT GATTTAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGA TCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTT TTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAG GATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTT GCAACAAAAAACACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCC GGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAAGTGGCTT CAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCC GTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTAC ATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAG TGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGAT AGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGG TTCGTGCACACAGCCAGCTTGAGCGAACGACCTACACCG AACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACG CTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGTAAGCG GCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGG GGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCA CCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGG GGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTA CGTTCTGCGCCTTTTGCTGCGCTTTTGCTCACATGTTCTTT CCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCC TTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCGAACGACCGA GCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCA ATACGCAAACCGCCTCTCCCGCGCGTTGGCGGATTCATTA ATGCAGCTGGCAGCAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCA GTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGG CACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGT GTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCT ATGACCATGATTACGCCAGATTTAATTAAGGCCTTAATTAGG

[0122]

[0123]

외생성 핵산을 표적 세포로 전달하는 방법

[0124]

이식유전자, 이를 테면 본원에 기술된 SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 이식유전자를 표적 세포 (가령, 포유류 세포)로 도입시키는데 이용되는 기술은 당분야에 공지되어 있다. 예를 들면, 전기천공법은 관심대상 세포에 정전기 전위를 적용하여 포유동물 세포(가령, 인간 표적 세포)를 투과성화하는 데 사용될 수 있다. 이러한 방식으로 외부 전기장에 노출된 포유류 세포, 이를 테면 인간 세포는 후속적으로 외인성 핵산의 취입이 용이하다. 포유류 세포의 전기천공은 가령, Chu et al., Nucleic Acids Research 15:1311 (1987)에서 상세하게 기술되어 있으며, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다. 유사한 기술인 Nucleofection™은 외인성 폴리뉴클레오티드가 진핵 세포의 핵으로 흡수되도록 자극하기 위해 적용된 전기장을 활용한다. 이 기술을 수행하는 데 유용한 Nucleofection™ 및 프로토콜은 가령, Distler et al., Experimental Dermatology 14:315 (2005), 뿐만 아니라 US 2010/0317114에서 상세하게 기술되어 있으며, 이들 각 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다.

[0125]

표적 세포의 형질감염에 유용한 추가 기술에는 압착-천공 방법이 내포된다. 이 기술은 가해진 스트레스에 반응하여 형성되는 막 구멍을 통해 외인성 DNA의 흡수를 자극하기 위해 세포의 빠른 기계적 변형을 유도한다. 이 기술은 인간 표적 세포와 같은 세포 내로 핵산을 전달하기 위해 벡터가 필요하지 않다는 점에서 유리하다. 압착-천공은 가령, Sharei et al., Journal of Visualized Experiments 81:e50980 (2013)에서 상세하게 기술되어 있으며, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다.

[0126]

리포펙션은 표적 세포의 형질감염에 유용한 또 다른 기술을 나타낸다. 이 방법은 리포솜 외부로 향해 사차 또는 양성자화 아민과 같은 양이온성 작용기를 나타내는 리포솜에 핵산을 로딩하는 것과 관련된다. 이 방법은 세

포막의 음이온 특성으로 인해 리포솜과 세포 사이의 정전기적 상호작용을 촉진시키고, 이는 궁극적으로 예를 들어, 리포솜과 세포막의 직접적인 융합 또는 복합체의 세포내이입에 의해 외인성 핵산의 흡수로 이어진다. 리포솜은 예를 들면, US 특허 번호 7,442,386에서 기술되어 있으며, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다. 외래 핵산의 흡수를 유발하기 위해 세포막과의 이온 상호작용을 활용하는 유사한 기술에는 세포를 양이온성 중합체-핵산 복합체와 접촉이 내포된다. 세포막과의 상호작용에 유리한 양전하를 부여하기 위해 폴리뉴클레오티드와 결합하는 예시적인 양이온성 분자에는 활성화된 덴드리머가 내포되며(가령, Dennig, Topics in Current Chemistry 228:227 (2003)에서 기술되며, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다) 폴리에틸렌이민, 및 디에틸아미노에틸(DEAE)-텍스트란을 형질감염체로 사용하는 방법은 예를 들면, Gulick et al., Current Protocols in Molecular Biology 40:1:9.2:9.2.1 (1997)에서 자세히 설명되어 있고, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다. 자기 비드(magnetic beads)는 온화하고 효율적인 방식으로 표적 세포를 형질감염시키는 데 사용할 수 있는 또 다른 도구이며, 이 방법은 핵산 취입을 지시하기 위해 적용된 자기장을 활용하기 때문이다. 이 기술은 예를 들면, US 2010/0227406에서 상세하게 기술되어 있으며, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다.

[0127] 표적 세포에 의한 외인성 핵산 흡수를 유도하는 또다른 유용한 도구는 레이저펙션-광학 형질감염이라고도 함-인데, 이 기술은 특정 파장의 전자기 방사선에 세포를 노출시키는 기술로써, 세포를 부드럽게 통과시키고, 폴리뉴클레오티드가 세포막에 침투할 수 있도록 한다. 이 기술의 생체활성은 전기천공법과 유사하며 일부 경우에는 전기천공법보다 우수한 것으로 나타났다.

[0128] 임팔레క్ష션(impalefection)은 유전 물질을 표적 세포에 전달하는 데 사용할 수 있는 또 다른 기술이다. 이것은 탄소나노섬유, 탄소나노튜브, 나노와이어 등 나노물질을 활용하는 기술이다. 바늘-유사모양의 나노구조는 기질 표면에 수직으로 합성된다. 세포내 전달을 위한 유전자를 함유한 DNA가 나노구조 표면에 부착된다. 그런 다음, 이러한 바늘 배열을 갖는 칩을 세포나 조직으로 밀어 넣는다. 나노구조에 의해 찢린 세포는 전달된 유전자(들)를 발현시킬 수 있다. 이 기술의 예시는 Shalek et al., PNAS 107: 1870 (2010)에 기술되어 있으며, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다.

[0129] 마그네토펙션(magnetofection) 또한 핵산을 표적 세포에 전달하는 데 사용될 수 있다. 마그네토펙션 원리는 핵산을 양이온성 자기 나노입자와 연합시키는 것이다. 자성 나노입자는 완전히 생분해되는 산화철로 만들어지며, 용도에 따라 달라지는 특정 양이온 독점 분자로 코팅된다. 유전자 벡터(DNA, RNA, 바이러스 벡터, 등등)와의 결합은 염에 의한-유도된 콜로이드 응집 및 정전기적 상호작용에 의해 이루어진다. 그러면, 자석에 의해 생성된 외부 자기장의 영향으로 자성 입자가 표적 세포에 집중된다. 이 기술은 Scherer et al., Gene Therapy 9:102 (2002)에서 상세하게 기술되어 있으며, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다.

[0130] 표적 세포에 의한 외인성 핵산 흡수를 유도하는 또 다른 유용한 도구는 초음파천공법이며, 이것은 세포막의 투과성을 수정하여 세포를 통과시키고 폴리뉴클레오티드가 세포막을 침투할 수 있도록 하기 위해 소리(일반적으로 초음파 주파수)를 사용하는 기술이다. 이 기술은 Rhodes et al., Methods in Cell Biology 82:309 (2007)에서 상세하게 기술되어 있으며, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있다.

[0131] 미세소포는 본원에 기술된 방법에 따라 표적 세포의 게놈을 변형하는데 사용될 수 있는 또 다른 잠재적 비히클을 나타낸다. 예를 들면, 뉴클레아제와 같은 게놈 변형 단백질과 당단백질 VSV-G의 동시-과발현에 의해 유도된 미세소포는 유전자 또는 조절 서열과 같은 관심 폴리뉴클레오티드의 공유 결합을 위한 세포의 게놈을 준비하기 위해 내생성 폴리뉴클레오티드 서열의 부위 특이적 절단을 후속적으로 촉매하는 세포 내로 단백질을 효율적으로 전달하는 데 사용될 수 있다. 진핵 세포의 유전적 변형을 위한 이러한 소포(게시클(Gesicles)라고도 함)의 사용은 가령, Quinn et al., Genetic Modification of Target Cells by Direct Delivery of Active Protein [abstract]. In: Methylation changes in early embryonic genes in cancer [abstract], in: Proceedings of the 18th Annual Meeting of the American Society of Gene and Cell Therapy; 2015 May 13, Abstract No. 122에 자세히 설명되어 있다.

[0132] **외생성 핵산을 표적 세포로 전달하기 위한 벡터**

[0133] 높은 비율의 전사 및 해독을 달성하는 것 외에도, 포유동물 세포에서 외인성 유전자의 안정적인 발현은 유전자를 함유하는 폴리뉴클레오티드를 포유동물 세포의 핵 게놈에 통합함으로써 달성될 수 있다. 외생성 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포유동물 세포의 핵 DNA에 전달하고 통합하기 위한 다양한 벡터가 개발되었다. 발현 벡터의 예시들은 가령, Gellissen, Production of Recombinant Proteins: Novel Microbial and Eukaryotic Expression Systems (John Wiley & Sons, Marblehead, MA, 2006)에 기술되어 있다. 본원에 기술된

조성물들 및 방법들에 이용되는 발현 벡터는 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드) 작동가능하도록 연계된 관심대상의 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열, 뿐만 아니라, 가령, 이들 제제의 발현 및/또는 이들 폴리뉴클레오티드 서열의 포유동물 세포 계놈으로의 통합에 사용되는 추가 서열 요소들을 함유한다. 관심대상의 단백질을 인코딩하는 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 SLC6A14 프로모터를 함유하는 벡터에는 플라스미드 (가령, 세포 내부에서 자율적으로 복제할 수 있는 원형 DNA 분자), 코스미드 (가령, pWE 또는 sCos 벡터), 인위적인 염색체 (가령, 인간 인위적인 염색체 (HAC), 효모 인위적인 염색체 (YAC), 세균성 인위적인 염색체 (BAC), 또는 P1-유래된 인위적인 염색체 (PAC)), 및 바이러스성 벡터가 내포된다. 관심대상의 단백질의 발현에 이용될 수 있는 특정 벡터에는 유전자 전사를 지시하는 조절 서열, 이를 테면, 인핸서 영역을 함유하는 플라스미드가 내포된다. 관심대상의 단백질의 발현을 위한 기타 유용한 벡터는 이들 유전자의 번역 속도를 향상시키거나 유전자 전사로부터 발생하는 mRNA의 안정성 또는 핵 추출을 향상시키는 폴리뉴클레오티드 서열을 함유한다. 이들 서열 요소에는 해당 발현 벡터가 휴대하는 유전자의 효과적인 전사를 지시하기 위해 예를 들면, 5' 및 3' 미해독 영역, 내부 리보솜 진입 부위 (IRES), 그리고 폴리아데닐화 신호생성 부위가 내포된다. 본원에 기술된 조성물들 및 방법들에 사용하기에 적합한 발현 벡터는 이러한 벡터를 함유하는 세포의 선별용 마커를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 또한 함유할 수 있다. 적합한 마커의 예로는 항생제, 이를 테면, 암피실린, 클로람페니콜, 카나마이신, 또는 나우르세오트리친 (nourseothricin)에 대한 내성을 인코딩하는 유전자들이 내포된다.

[0134] 핵산 전달을 위한 바이러스성 벡터

[0135] 바이러스성 계놈은 관심대상 유전자를 표적 세포 (가령, 포유류 세포, 이를 테면 인간 세포)의 계놈으로 효율적으로 전달하는 데 사용할 수 있는 풍부한 벡터 소스를 제공한다. 바이러스성 계놈이 유전자 전달에 특히 유용한데, 그 이유는 이러한 계놈 내에 포함된 폴리뉴클레오티드는 일반적으로 일반화 또는 특수 형질도입에 의해 포유동물 세포의 핵 계놈에 통합되기 때문이다. 이러한 과정은 자연적인 바이러스 복제 주기의 일부로 발생하며, 유전자 통합을 유도하기 위해 단백질이나 시약을 추가할 필요가 없다. 바이러스성 벡터의 예시에는 레트로바이러스 (가령, 레트로비리데 패밀리의 바이러스성 벡터), 아데노바이러스 (가령, Ad5, Ad26, Ad34, Ad35, 및 Ad48), 파르보바이러스 (가령 아데노-연합된 바이러스 또는 AAV), 코로나바이러스, 네가티브 가닥 RNA 바이러스 이를 테면, 오르소믹소바이러스 (가령, 인플루엔자 바이러스), 라도바이러스 (가령, 광견병 및 소포 위염 바이러스), 파라믹소바이러스 (가령, 홍역 및 센다이), 포지티브 가닥 RNA 바이러스, 이를 테면, 피코르나 바이러스 및 알파바이러스, 그리고 이중-가닥 DNA 바이러스 [아데노바이러스, 헤르페스바이러스 (가령, 헤르페스 심플렉스 바이러스 유형 1 및 2, 엡스타인-바르 바이러스, 사이토메갈로바이러스), 그리고 폭스바이러스 (가령, 우두, 변형 우두 양카라(MVA), 계두 및 카나리아폭스)가 내포된다. 다른 바이러스에는 예를 들면, 노르윅(Norwalk) 바이러스, 토가바이러스, 플라비바이러스, 레오바이러스, 파코파-바이러스, 헤파드나바이러스, 인간 유두종 바이러스, 인간 포말성 바이러스 그리고 간염 바이러스가 내포된다. 레트로바이러스의 예시에는 다음이 내포된다: 조류 백혈병 육종, 조류 C형 바이러스, 포유류 C형, B형 바이러스, D형 바이러스, 온코레트로바이러스, HTLV-BLV 그룹, 렌티바이러스, 알파레트로바이러스, 감마레트로바이러스, 스푸마바이러스(Coffin, J. M., Retroviridae: The viruses and their replication, Virology, Third Edition (Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996)). 다른 예로는 뮌 백혈병 바이러스, 뮌 육종 바이러스, 마우스 유방 종양 바이러스, 소 백혈병 바이러스, 고양이 백혈병 바이러스, 고양이 육종 바이러스, 조류 백혈병 바이러스, 인간 T-세포 백혈병 바이러스, 개코원숭이 내인성 바이러스, 긴팔 원숭이 백혈병 바이러스, 메이슨 화이자(Mason Pfizer) 원숭이 바이러스, 유인원 면역결핍 바이러스, 유인원 육종 바이러스, 라우스 육종 바이러스 및 렌티바이러스가 내포된다. 벡터의 기타 예시들은 예를 들면, US 특허 번호 5,801,030에서 기술되며, 그 내용은 본 문서에 참조자료에 편입되어 있고, 유전자 치료에 사용되는 바이러스 벡터와 관련이 있기 때문이다.

[0136] 핵산 전달용 AAV 벡터

[0137] 일부 구체예들에서, 세포 (가령, VSC) 내로의 도입을 촉진하기 위해, 본원에 기술된 조성물 및 방법의 폴리뉴클레오티드는 rAAV 벡터 및/또는 비리온에 통합된다. 본원에 기술된 조성물들 및 방법들에 유용한 rAAV 벡터는 다음을 내포하는 제조합 핵산 구조체이다: (1) 본원에 기술된 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드), (2) 발현되는 이중성 서열, 그리고 (3) 이들 이중성 유전자의 안정성 및 발현을 촉진시키는 바이러스성 서열. 상기 바이러스성 서열에는 DNA를 비리온으로 복제 및 패키징(가령, 기능적 ITR)하기 위해 시스(cis)에서 필요한 AAV의 서열들이 내포될 수 있다. 전형적인 용도

에서, 상기 이식유전자는 전정 유모 세포 발생, 전정 유모 세포 운명 상세, 전정 유모 세포 재생, 전정 유모 세포 및/또는 VSC 증식, 전정 유모 세포 신경분포, 또는 전정 유모 세포 성숙, 또는 유전성 전정 기능장애 형태를 갖는 대상체에서 돌연변이된 전정 유머 세포 단백질의 야행형을 촉진시키거나 또는 증가시킬 수 있는 단백질을 인코딩하는데, 이들 단백질은 전정 기능장애 (가령, 현기증, 어지러움, 불균형, 양측성 전정병증, 양측 전정 기능저하, 진동시증, 또는 균형 장애)와 연관된 돌연변이를 휴대하는 대상체에서 전정 기능의 개선에 유용할 수 있다. 이러한 rAAV 벡터는 마커 또는 리포터 유전자들을 또한 함유할 수 있다. 유용한 rAAV 벡터는 상기 AAV WT 유전자들 중 하나 또는 그 이상이 전체 또는 일부분으로 결손되지만, 그러나 기능을 하는 측면 ITR 서열을 유지하고 있다. 상기 AAV ITRs는 특정 용도에 적합한 임의의 혈청형일 수 있다. 본원에 기술된 조성물 및 방법에 사용하기 위해, 상기 ITRs는 AAV2 ITRs일 수 있다. rAAV 벡터를 이용하는 방법들은 예를 들면, Tal et al., J. Biomed. Sci. 7:279 (2000), 그리고 Monahan and Samulski, Gene Delivery 7:24 (2000)에 기술되며, 이들 각각의 개시내용은 유전자 전달을 위한 AAV 벡터에 관한 것이므로 참조로 본원에 편입된다.

[0138] 본원에 기술된 폴리뉴클레오티드 및 벡터 (가령, 관심대상의 단백질을 인코딩하는 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 SLC6A14 프로모터)는 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 세포(가령, VSC) 내로의 도입을 촉진하기 위해 rAAV 비리온에 포함될 수 있다. AAV의 캡시드 단백질은 비리온의 외부 비핵산 부분을 구성하고, AAV 캡 유전자에 의해 인코딩된다. 상기 캡(cap) 유전자는 비리온 조립에 필요한 세 가지 바이러스 외피 단백질인 VP1, VP2 및 VP3을 인코딩한다. rAAV 비리온의 구축은 예를 들면, US 5,173,414; US 5,139,941; US 5,863,541; US 5,869,305; US 6,057,152; 그리고 US 6,376,237; 뿐만 아니라 Rabinowitz et al., J. Virol. 76:791 (2002) 및 Bowles et al., J. Virol. 77:423 (2003)에 기술되며, 이들 각각의 개시내용은 유전자 전달을 위한 AAV 벡터에 관한 것이므로 참조로 본원에 편입된다.

[0139] 본원에 기술된 조성물들 및 방법들과 함께 유용한 rAAV 비리온에는 AAV 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, rh10, rh39, rh43, rh74, Anc80, Anc80L65, DJ/8, DJ/9, 7m8, PHP.B, PHP.eB, 및 PHP.S를 비롯한 다양한 AAV 혈청형으로부터 파생된 것들이 내포된다. VSCs를 표적으로 하기 위해, AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, Anc80, Anc80L65, 7m8, PHP.B, PHP.eB, 또는 PHP.S 혈청형이 특별히 유용할 수 있다. 망막의 형질도입을 위해 진화된 혈청형은 또한 본원에 기술된 방법 및 조성물에 사용될 수 있다. AAV 벡터 및 다양한 혈청형의 AAV 단백질의 구성 및 사용이 예를 들어, Chao et al., Mol. Ther. 2:619 (2000); Davidson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:3428 (2000); Xiao et al., J. Virol. 72:2224 (1998); Halbert et al., J. Virol. 74:1524 (2000); Halbert et al., J. Virol. 75:6615 (2001); 그리고 Auricchio et al., Hum. Molec. Genet. 10:3075 (2001)에 기술되며, 이들 각각의 개시내용은 유전자 전달을 위한 AAV 벡터에 관한 것이므로 참조로 본원에 편입된다.

[0140] 본원에 기술된 조성물들 및 방법들과 관련하여 허위형화된(pseudotyped) rAAV 벡터 또한 유용하다. 허위형화된 벡터에는 주어진 혈청형 (가령, AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, 등등)이외의 혈청형으로부터 파생된 캡시드 유전자로 허위형화된 주어진 혈청형 (가령, AAV9)의 AAV 벡터가 내포된다. 허위형화된 rAAV 비리온의 구성 및 사용과 관련된 기술은 해당 분야에 알려져 있으며, 예를 들면, Duan et al., J. Virol. 75:7662 (2001); Halbert et al., J. Virol. 74:1524 (2000); Zolotukhin et al., Methods, 28:158 (2002); 그리고 Auricchio et al., Hum. Molec. Genet. 10:3075 (2001)에 설명되어 있다.

[0141] 비리온 캡시드 내에 돌연변이가 있는 AAV 비리온은 돌연변이되지 않은 캡시드 비리온보다 특정 세포 유형을 더 효과적으로 감염시키는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 적합한 AAV 돌연변이체는 특정 세포 유형에 대한 AAV 표적화를 촉진하기 위한 리간드 삽입 돌연변이를 가질 수 있다. 삽입 돌연변이, 알라닌 스크리닝 돌연변이 및 에피토프 태그 돌연변이를 포함한 AAV 캡시드 돌연변이의 구축 및 특성화는 Wu et al., J. Virol. 74:8635 (2000)에 기술된다. 본원에 기술된 방법에 사용될 수 있는 다른 rAAV 비리온에는 바이러스의 분자 번식뿐만 아니라 엑손 서플링에 의해 생성된 캡시드 하이브리드가 내포된다. 가령, Soong et al., Nat. Genet., 25:436 (2000) 및 Kolman and Stemmer, Nat. Biotechnol. 19:423 (2001) 참고.

[0142] 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터 (가령, AAV 벡터)에는 인간 Atoh1 (인간 ATOH1 단백질 = RefSeq 수탁 번호. NP_005163 (서열 식별 번호: 4); mRNA 서열 = RefSeq 수탁 번호. NM_005172)을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열에 작동가능하도록 연계된 본원에서 기술된 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드)가 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 SLC6A14 프로모터는 서열 식별 번호: 1 (서열 식별 번호: 10의 뉴클레오티드 219-1977로도 또한 제시됨)의 SLC6A14 프로모터이며, 이것은 인간 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열에 작동가능하도록 연계된다. 일부 구체예들에서, 인간 Atoh1

을 인코딩하는 상기 폴리뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 5이다. 일부 구체예들에서, 인간 Atoh1을 인코딩하는 상기 폴리뉴클레오타이드 서열은 유전자 코드 축중에 의한 임의의 폴리뉴클레오타이드 서열이며, 서열 식별 번호: 4을 인코딩한다. 인간 Atoh1을 인코딩하는 상기 폴리뉴클레오타이드 서열은 발현을 위해 부분적으로 또는 전적으로 코돈-최적화된다. 일부 구체예들에서, 상기 벡터에는 5'에서 3' 순서로, 제1 역전된 말단 반복부; 서열 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터; SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 인간 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열; 폴리아데닐화 서열; 그리고 제2 역전된 말단 반복부가 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 5'에서 3' 순서로, 제1 역전된 말단 반복부; 서열 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터; SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 인간 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열; 우드척 전사-후 조절 요소 (WPRE); 폴리아데닐화 서열; 그리고 제2 역전된 말단 반복부가 내포된다. 일부 구체예들에서, WPRE는 서열 식별 번호: 8 또는 서열 식별 번호: 9의 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 WPRE는 서열 식별 번호: 8의 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 WPRE는 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 3064-3611의 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리아데닐화 서열은 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 3624-3831의 서열을 갖는다. 특정 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 역전된 말단 반복부의 측면에 있는, 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831이 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 역전된 말단 반복부는 AAV2 역전된 말단 반복부이다. 일부 구체예들에서, 상기 역전된 말단 반복부는 AAV2 역전된 말단 반복부의 임의의 변이체이며, 이들은 AAV2 Rep 유전자를 휴대하고 있는 플라스미드에 의해 캡슐화될 수 있다. 특정 구체예들에서, 더 더욱 특이적인 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 역전된 말단 반복부의 측면에 있는, 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831이 내포되며, 이때 5' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 1-130에 대해 적어도 80% 서열 동일성 (가령, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성)을 갖고; 그리고 이때 3' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 3919-4048에 대해 적어도 80% 서열 동일성 (가령, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성)을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터는 바이러스성 벡터다. 일부 구체예들에서, 상기 바이러스성 벡터는 AAV 벡터다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV8 캡시드를 갖는다.

[0143]

일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터 (가령, AAV 벡터)에는 뮤린 Atoh1 (뮤린 ATOH1 단백질 = UniProt P48985 (서열 식별 번호: 6); mRNA 서열 = RefSeq 수탁 번호. NM_007500.5)을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 작동가능하도록 연계된 본원에서 기술된 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오타이드)가 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 SLC6A14 프로모터는 서열 식별 번호: 1 (서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-1977로도 또한 제시됨)의 SLC6A14 프로모터이며, 이것은 뮤린 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열에 작동가능하도록 연계된다. 일부 구체예들에서, 뮤린 Atoh1을 인코딩하는 상기 폴리뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 7이다. 일부 구체예들에서, 뮤린 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 서열 식별 번호: 6을 인코딩하는 유전자 코드의 축중 코드의 임의의 폴리뉴클레오타이드 서열이다. 뮤린 Atoh1을 인코딩하는 상기 폴리뉴클레오타이드 서열은 발현을 위해 부분적으로 또는 전적으로 코돈-최적화된다. 일부 구체예들에서, 상기 벡터에는 5'에서 3' 순서로, 제1 역전된 말단 반복부; 서열 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터; SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 뮤린 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열; 폴리아데닐화 서열; 그리고 제2 역전된 말단 반복부가 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 5'에서 3' 순서로, 제1 역전된 말단 반복부; 서열 식별 번호: 1의 SLC6A14 프로모터; SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 뮤린 Atoh1을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열; 우드척 전사-후 조절 요소 (WPRE); 폴리아데닐화 서열; 그리고 제2 역전된 말단 반복부가 내포된다. 일부 구체예들에서, WPRE는 서열 식별 번호: 8 또는 서열 식별 번호: 9의 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 WPRE는 서열 식별 번호: 8의 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 WPRE는 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 3055-3602의 서열을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 폴리아데닐화 서열은 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 3615-3822의 서열을 갖는다. 특정 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 역전된 말단 반복부의 측면에 있는, 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822가 내포된다. 일부 구체예들에서, 상기 역전된 말단 반복부는 AAV2 역전된 말단 반복부이다. 일부 구체예들에서, 상기 역전된 말단 반복부는 AAV2 역전된 말단 반복부의 임의의 변이체이며, 이들은 AAV2 Rep 유전자를 휴대하고 있는 플라스미드에 의해 캡슐화될 수 있다. 특정 구체예들에서, 더 더욱 특이적인 구체예들에서, 상기 핵산 벡터에는 역전된 말단 반복부의 측면에 있는, 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822가 내포되며, 이때 5' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 1-130에 대해 적어도 80% 서열 동일성 (가령, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성)을 갖고; 그리고 이때 3' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 3910-4039에 대해 적어도 80% 서열 동일성 (가령, 적어도 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 서열 동일성)을 갖는다. 일부 구체예들에서, 상기 핵산 벡터는 바이러스성 벡터다. 일부 구체예들에서, 상기 바이러스성 벡터는 AAV 벡터다. 일부 구체예들에서, 상기 AAV 벡터는 AAV8 캡시드를 갖는다.

[0144] 본 발명의 바이러스성 벡터의 생성은 전형적으로 적절한 바이러스 패키징 및 생존성에 필요한 요소를 제공하는 추가 플라스미드와 함께 본 발명의 플라스미드의 사용을 요구한다 (가령, AAV의 경우, 적절한 AAV rep 유전자, cap 유전자 및 기타 유전자(가령, E2A 및 E4)를 제공하는 플라스미드))는 것을 당업자는 인지해야 한다. 생산자 세포주에서 이러한 플라스미드의 조합으로 바이러스 벡터가 생성된다. 그러나, 바이러스 벡터를 생성하는데 사용되는 본 발명의 전달 플라스미드의 임의의 주어진 역전된 말단 반복 서열 쌍에 대해, 바이러스 벡터의 상응하는 서열은 ITRs이 "플립" 또는 "플롭" 배향을 채택하는 동안 변경될 수 있다는 것을 당업자는 인지할 것이다. 따라서, 전달 플라스미드의 ITR 서열은 이로부터 제조된 바이러스 벡터에서 발견되는 서열과 반드시 동일할 필요는 없다.

[0145] 약제학적 조성물

[0146] 상기 본원에 기술된 폴리뉴클레오타이드 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상의 서열 동일성)을 갖는 SLC6A14 프로모터)는 이식유전자 (가령, 관심대상의 단백질, shRNA, ASO, 또는 뉴클레아제 (가령, Cas9, TALEN, ZFN, 또는 gRNA)을 인코딩하는 이식유전자, 또는 마이크로RNA를 생산하기 위해 전사되어야 할 이식유전자)에 작동가능하도록 연계되며, 환자, 이를 테면 전정 기능장애를 앓고 있는 인간 환자에게 투여하기 위한 비히클로 통합될 수 있다. 벡터, 이를 테면 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 본원에서 기술된 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 바이러스성 벡터를 함유하는 약제학적 조성물은 당분야에 공지된 방법들을 이용하여 준비될 수 있다. 예를 들면, 이러한 조성물은 예를 들면, 생리학적으로 수용가능한 담체, 부형제 또는 안정화제를 이용하고 (Remington: The Science and Practice of Pharmacology 22nd edition, Allen, L. Ed. (2013) 본원에 참고 자료로 편입됨), 그리고 바람직한 형태, 예를 들면, 동결건조된 제형 또는 수성 용액 형태로 준비될 수 있다.

[0147] 본원에 기술된 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 SLC6A14 프로모터(가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오타이드)를 함유하는 핵산 벡터 (가령, 바이러스성 벡터)는 하나 또는 그 이상의 부형제, 운반체, 또는 희석제가 적절하게 혼합된 물에서 준비될 수 있다. 분산액은 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 이들의 혼합물 및 오일로 또한 제조될 수 있다. 일반적인 보관 및 사용 조건에서 이러한 제제에는 미생물 성장을 방지하기 위해 보존제를 함유할 수 있다. 주사용으로 사용에 적합한 약제학적 형태에는 멸균 수성 용액 또는 분산액과 멸균 주사용 용액 또는 분산의 임기 조제용 멸균 분말이 내포된다 (US 특허 번호 5,466,468에서 기술되며, 이의 전문이 본원에 참고자료로 편입됨). 임의의 경우에, 상기 제형은 멸균될 수 있고, 용이한 주사가능성이 있을 정도로 유동적일 수 있다. 제형들은 제조 및 저장 조건 하에서 안정적일 수 있고, 박테리아 및 곰팡이와 같은 미생물의 오염 작용에 대하여 보존될 수 있다. 상기 운반체는 예를 들면, 물, 에탄올, 폴리올 (가령, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 이와 유사한 것들), 그리고 이들의 적합한 혼합물들 및/또는 식물성 오일이 포함된 용매 또는 분산액 매질이 될 수 있다. 예를 들면, 피복제, 이를 테면 레시틴의 이용에 의해, 분산액의 경우 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 이용에 의해 적절한 유동성이 유지될 수 있다. 미생물의 작용의 예방은 예를 들면, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 소르브산, 티메로졸 및 이와 유사한 것들과 같은 다양한 항박테리아 및 항진균제를 포함시킴으로써 확보된다. 많은 경우에, 등장성 제제, 예를 들어, 당 또는 염화 나트륨을 포함하는 것이 합당할 것이다. 흡수를 지연시키는 물질, 이를 테면, 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴과 같은 물질을 이 조성물에 사용함으로써 주사가능한 조성물의 연장된 흡수를 가져올 수 있다.

[0148] 예를 들면, 본원에 기술된 약제학적 조성물을 함유하는 용액은 필요하다면, 적절하게 완충될 수 있으며, 액체 희석제는 먼저 충분한 식염수 또는 포도당을 사용하여 등장성이 되도록 한다. 이들 특정 수성 용액은 특히 정맥내, 근육내, 피하 및 복강내 투여에 적합하다. 이와 관련하여, 사용될 수 있는 멸균 수성 매질은 본 개시 내용에 비추어 당업자가 알고 있을 것이다. 예를 들면, 1 회 투여량(dosage)을 1ml의 등장성 NaCl 용액에 용해시키고, 1000ml의 피하주입 유체에 첨가하거나 또는 제안된 주입 부위에 주사할 수 있다. 투여량의 약간의 변화는 치료받는 대상의 상태에 따라 필연적으로 발생할 것이다. 중이 또는 내이의 국소 투여를 위해, 조성물은 합성 외림프 용액을 함유하도록 제형화될 수 있다. 예시적인 합성 외림프 용액에는 20-200mM NaCl, 1-5mM KCl,

0.1-10mM CaCl₂, 1-10mM 포도당 및 2-50mM HEPEs가 포함되며, pH는 약 6-9이고, 삼투압은 대략 300mOsm/kg이다. 투여 책임자는 임의의 경우에서 개별 대상체에 대한 적절한 용량을 결정할 것이다. 더욱이, 인체 투여를 위해, 조제물(preparations)은 FDA Office of Biologics 표준에서 요구하는 무균, 발열성, 일반 안전 및 순도 표준을 충족해야 할 수 있다.

[0149] **치료 방법**

[0150] 본원에 기술된 조성물은 전정 기능장애를 갖는 또는 이러한 장애 발달 위험이 있는 대상체에게 대양한 경로를 통하여, 이를 테면 중이 또는 내이로 국소 투여 (가령, 외림프 또는 내림프로의 투여, 이를 테면 난원창, 원형창 또는 반고리관(가령, 수평관)을 통해 외림프 또는 내림프에 투여, 또는 고막을 경유하여 또는 고막 내 주사를 통하여, 가령, 전정 지지 세포 또는 유모 세포로의 투여), 정맥내, 비경구, 피내, 경피, 근육내, 비강내, 피하, 경피, 기관내, 복강내, 동맥내, 혈관내, 흡입, 관류, 세척 및 경구 투여를 통하여 투여될 수 있다. 임의의 주어진 경우에 대하여 가장 적합한 투여 경로는 투여되는 특정 조성물, 환자, 약제학적 제형 방법, 투여 방법 (예를 들어, 투여 시간 및 투여 경로), 환자의 연령, 체중, 성별, 치료될 질환의 중증도, 환자의 식단, 환자의 배설 속도에 따라 달라질 것이다. 조성물은 1회 또는 1회 이상 (가령, 1년에 1회, 1년에 2회, 1년에 3회, 격월, 월간 또는 격주) 투여될 수 있다.

[0151] 본원에 기술된 바와 같이 치료될 수 있는 대상체는 전정 기능장애가 있거나 발생할 위험이 있는 대상체다. 본원에 기술된 조성물들 및 방법들을 이용하여 전정 유모 세포에 손상 (가령, 질환 또는 감염, 두부-외상, 내이독성 약물 (가령, 아미노글리코시드), 또는 노화와 관련된 손상이 있는, 또는 손상이 발생될 위험에 있는 대상체, 전정 기능장애 (가령, 현기증, 어지러움, 불균형, 양측성 전정병증 (또한 양측 전정 기능저하로도 불림), 진동시증, 또는 균형 장애)를 갖는 또는 이러한 장애 발달위험에 있는 대상체, 전정 기능장애와 연관된 유전적 돌연변이를 보유하는 대상체, 또는 유전성 전정 기능장애의 가족력이 있는 대상체를 치료할 수 있다. 일부 구체예들에서, 유모 세포(가령, 전정 유모 세포)의 손상 또는 손실과 관련된 질환은 자가면역 반응이 유모 세포 손상 또는 사망의 원인이 되는 자가면역 질환 또는 병태다. 전정 기능 장애에 연계된 자가면역 질환에는 자가면역 내이 질환(AIED), 결절 다발 동맥염(PAN), 코건 증후군, 재발성 다연골염, 전신 홍반 루푸스(SLE), 베게너 육아종증, 쇼그렌 증후군, 및 베체트병이 내포된다. 일부 감염성 질환, 이를 테면 라임병 및 매독도 전정 기능 장애를 유발할 수 있다(가령, 자가항체 생성을 유발하여). 바이러스성 감염, 이를 테면, 풍진, 거대세포종바이러스(CMV), 림프구성 맥락수막염 바이러스(LCMV), HSV 유형 1&2, 웨스트 나일 바이러스(WNV), 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 수두 대상포진 바이러스(VZV), 홍역, 및 볼거리 또한 전정 기능장애의 원인이 될 수 있다. 일부 구체예들에서, 대상체는 유모 세포 (가령, 전정 유모 세포)의 상실과 연합되거나, 또는 이로 인한 전정 기능장애를 갖는다. 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 조성물 및 방법은 진동시증을 앓고 있거나 발병할 위험이 있는 대상을 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 조성물 및 방법들을 이용하여 양측성 전정병증을 갖는 또는 이의 발달 위험에 처해 있는 대상체를 치료할 수 있다. 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 조성물 및 방법은 균형 장애 (가령, 불균형)을 앓고 있거나 발병할 위험이 있는 대상을 치료하는 데 사용될 수 있다. 본원에 기술된 방법들에는 본원에 기술된 조성물을 이용한 치료 또는 투여 전, 전정 기능장애와 연관된 것으로 알려진 유전자에 대해 하나 또는 그 이상의 돌연변이에 대해 대상체를 스크리닝을 하는 단계가 내포될 수 있다. 대상체는 당업자에게 공지된 표준 방법(가령, 유전자 검사)을 사용하여 유전적 돌연변이에 대해 스크리닝될 수 있다. 본원에 기술된 방법들에는 본원에 기술된 조성물을 이용한 치료 또는 투여 전 대상체에서 전정 기능을 평가하는 단계가 또한 내포될 수 있다. 전정 기능은 표준 테스트, 이를 테면 눈 운집임 테스트 (가령, 전자진동조영술(ENG) 또는 비디오안진검사(VNG)), 전정-안구 반사 테스트(VOR) (가령, 머리 충동 테스트 (할마기-쿠르토이스(Halmagyi-Curthoys) 테스트), 침대 옆에서 수행될 수 있거나, 비디오-두부 자극 테스트(VHIT), 또는 칼로리 반사 테스트를 이용하여 수행될 수 있고), 자세조영술, 회전-의자 테스트, ECOG, 전정 유발된 근원 전위(VEMP), 그리고 전문적인 임상 균형 테스트, 이를 테면, Mancini and Horak, Eur J Phys Rehabil Med, 46:239 (2010)에서 기술된 테스트들을 이용하여 평가될 수 있다. 이들 테스트는 본원에 기술된 조성물로 치료하거나 투여한 후 대상의 전정 기능을 평가하는 데 또한 사용될 수 있다. 본원에 기술된 조성물들 및 방법들은 전정 기능장애 발달 위험에 처한 환자들, 가령, 전정 기능장애 (가령, 유전된 전정 기능장애의 가족력을 가진 환자들), 전정 기능장애의 증상을 아직은 보이지 않지만 전정 기능장애와 연관된 유전적 돌연변이를 휴대하고 있는 환자들, 또는 후천적 전정 기능장애에 대한 위험 인자들에 노출된 환자들 (가령, 질환 또는 감염, 두부-외상, 내이독성 약물, 또는 노화)을 치료하기 위한 예방적 치료로써 또한 투여될 수 있다. 본원에 기술된 조성물들 및 방법들은 특발성 전정 기능장애를 갖는 대상체의 치료에 또한 이용될 수 있다.

[0152] 본원에 기술된 조성물들 및 방법들은 대상체에서 대상체 (가령, 전정 유모 세포 재생)을 유도 또는 증가시키는

데 이용될 수 있고, 및/또는 전정 유모 세포 및/또는 VSCs의 증식을 유도 또는 증식시키는데 이용될 수 있다. 전정 유모 세포 재생, 전정 유모 세포 신경분포, 및/또는 전정 유모 세포 및/또는 VSC 증식을 촉진 또는 유도하는 조성물로부터 혜택을 받을 수 있는 대상체들에는 유모 세포의 상실 (가령, 외상 (가령, 두부-외상), 질환 또는 감염, 내이독성 약물, 또는 노화)에 관련하여 전정 유도 세포의 상실의 결과로써 전정 기능장애를 갖거나 또는 전정 기능장애의 발달 위험에 처한 대상체, 그리고 비정상적 전정 유모 세포 (가령, 정상적 전정 유모 세포와 비교하였을 때 적절하게 기능을 하지 않는 전정 유모세포), 손상된 전정 유모 세포 (가령, 외상 (가령, 두부-외상), 질환 또는 감염, 내이독성 약물, 또는 노화에 관련된 전정 유모 세포)를 갖는 대상체, 또는 유전적 돌연변이 또는 선천적 비정상으로 인하여 전정 유모 세포수가 감소된 대상체들이 내포된다. 본원에 기술된 조성물들 및 방법들을 이용하여 전정 유모 세포 성숙을 촉진 또는 증가시키는데 이용될 수 있으며, 이는 전정 기능의 개선으로 이어질 수 있다. 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 조성물들 및 방법들은 재생된 전정 유모 세포의 성숙을 촉진 또는 증가시킨다 (가령, VSCs에서 본원에 기술된 조성물, 이를 테면 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 SLC6A14 프로모터를 함유하는 조성물의 발현에 반응하여 형성된 전정 유모 세포의 성숙을 촉진시키거나 또는 증가시키기 위해). 본원에 기술된 조성물들 및 방법들은 VSC 및/또는 전정 유모 세포 생존을 촉진 또는 증가시키고 및/또는 VSC 기능을 또한 개선시킬 수 있다.

[0153] 본원에 기술된 조성물들 및 방법들은 내이독성 약물로 치료를 받았던, 또는 현재 내이독성 약물로 치료중이거나, 또는 내이독성 약물 치료를 곧 시작할 대상체들에서 내이독성 약물-유도된 유모 세포 손상 또는 사멸 (가령, 전정 유모 세포 손상 또는 사멸)로 인하여 야기되는 전정 기능장애를 또한 예방 또는 감소시킬 수 있다. 내이독성 약물은 내이의 세포에 독성이며, 전정 기능장애 (가령, 어지러움, 현기증, 불균형, 양측성 전정병증, 또는 진동시증)의 원인이 될 수 있다. 내이독성인 것으로 밝혀진 약물들에는 아미노글리코시드 항생제 (가령, 젠타마이신, 네오마이신, 스트렙토마이신, 토브라마이신, 카나마이신, 반코마이신, 아미카신), 비오마이신, 항중양제 (가령, 시스플라틴, 카보플라틴, 옥살리플라틴과 같은 백금 함유 화학요법제), 루프 이뇨제 (가령, 에타크린산 및 푸로세마이드), 살리실산염 (가령, 아스피린, 특히 고용량) 및 퀴닌이 내포된다. 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 방법 및 조성물을 이용하여 양측성 전정병증을 치료할 수 있다. 일부 구체예들에서, 본원에 기술된 방법 및 조성물은 아미노글리코시드 내이독성으로 인한 양측성 전정병증 또는 진동시증을 치료하는데 또한 이용될 수 있다 (가령, 본원에 기술된 방법 및 조성물은 아미노글리코시드-유도된 양측성 전정병증 또는 진동시증을 갖는 대상체에서 아미노글리코시드-유도된 전정 유모 세포 손상 또는 사멸을 감소시키는데 이용될 수 있으며, 또는 유모 세포 재생 및/또는 유모 세포 또는 VSC 증식을 촉진 또는 증가시키는데 이용될 수 있다).

[0154] 본원에서 기술된 바와 같이 대상체 치료를 위해 상기 SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 이식유전자 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오타이드)는 건강한 VSCs에서 발현되는 단백질 (가령, 전정 유모 세포 발생, 전정 유모 세포 운명 상세, 전정 유모 세포 재생, 전정 유모 세포 및/또는 VSC 증식, 전정 유모 세포 성숙, 또는 전정 유모 세포 신경분포에 역할을 하는 단백질, 또는 전정 기능장애를 갖는 대상체에 결핍된 단백질), 또다른 관심대상의 단백질 (가령, 치료 단백질 또는 리포터 단백질, 이를 테면 형광 단백질, lacZ, 또는 루시퍼라제)을 인코딩하는 이식유전자, shRNA, ASO, 뉴클레아제, 또는 마이크로RNA일 수 있다. 상기 이식유전자는 대상체 전정 기능장애의 원인 (가령, 만약 대상체의 전정 기능장애는 특정 유전적 돌연변이와 연관된 경우, 상기 이식유전자는 대상체에서 돌연변이된 유전자의 야생형일 수 있으며, 또는 만약 대상체가 유모 세포 상실과 연관된 전정 기능장애를 갖는 경우, 상기 이식유전자는 전정 유모 세포 재생, 전정 유모 세포 신경분포, 또는 전정 유모 세포 및/또는 VSC 증식을 촉진시키는 단백질을 인코딩할 수 있고), 대상체의 전정 기능장애의 중증도, 대상체의 유모 세포의 건강, 대상체의 연령, 대상체의 전정 기능장애 이력, 또는 기타 인자들에 근거하여 선택될 수 있다. 본원에서 기술된 대상체 치료용 SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 이식유전자에 의해 발현될 수 있는 단백질에는 Sox9, Sall2, Camta1, Hey2, Gata2, Hey1, Lass2, Sox10, Gata3, Cux1, Nr2f1, Hes1, Rorb, Jun, Zfp667, Lhx3, Nhlh1, Mxd4, Zmiz1, Myt1, Stat3, Barhl1, Tox, Prox1, Nfia, Thrb, Mycl1, Kdm5a, Creb314, Etv1, Peg3, Bach2, Isl1, Zbtb38, Lbh, Tub, Hmg20, Rest, Zfp827, Aff3, Pknox2, Arid3b, Mlxip, Zfp532, Ikzf2, Sall1, Six2, Sall3, Lin28b, Rfx7, Bdnf, Gfi1, Pou4f3, Myc, Ctnnb1, Sox2, Sox4, Sox11, Tead2, 아미노산 328, 331, 및/또는 334에서 치환 (가령, S328A, S331A, S334A, S328A/S331A, S328A/S334A, S331A/S334A, 및 328A/S331A/S334)을 함유하는 Atoh1, 및 Atoh1 변이체들이 내포된다.

[0155] 치료에는 본원에서 기술된 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1)를 함유하는 핵산 벡터 (가령, AAV 바이러스성 벡터)를 함유하는 조성물을 다양한 단위 용량으로 투여하는 것이 내포될 수 있다. 각 단위 용량은 통상적으로 사전-결정된 양의 치료 조성물을 함유한다. 투여되는 양, 특정 투여 경로 및 제형은 임상 분야의 기술

범위 내에 있다. 단위 용량은 단일 주사로 투여할 필요는 없지만, 설정된 시간 동안 연속 주입이 내포될 수 있다. 내이 (가령, 상기 전정)의 손상을 최소화하기 위해 주입 속도를 제어하기 위해 주사기 펌프를 사용하여 투여를 수행할 수 있다. 상기 핵산 벡터가 AAV 벡터 (가령, AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, rh10, rh39, rh43, rh74, Anc80, Anc80L65, DJ/8, DJ/9, 7m8, PHP.B, PHP.eB, 또는 PHP.S 벡터)인 경우들에서, 상기 바이러스성 벡터는 1 μ L 내지 200 μ L (가령, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 또는 200 μ L)의 용적 안에 예를 들면, 약 1×10^9 벡터 게놈 (VG)/mL 내지 약 1×10^{16} VG/mL (가령, 1×10^9 VG/mL, 2×10^9 VG/mL, 3×10^9 VG/mL, 4×10^9 VG/mL, 5×10^9 VG/mL, 6×10^9 VG/mL, 7×10^9 VG/mL, 8×10^9 VG/mL, 9×10^9 VG/mL, 1×10^{10} VG/mL, 2×10^{10} VG/mL, 3×10^{10} VG/mL, 4×10^{10} VG/mL, 5×10^{10} VG/mL, 6×10^{10} VG/mL, 7×10^{10} VG/mL, 8×10^{10} VG/mL, 9×10^{10} VG/mL, 1×10^{11} VG/mL, 2×10^{11} VG/mL, 3×10^{11} VG/mL, 4×10^{11} VG/mL, 5×10^{11} VG/mL, 6×10^{11} VG/mL, 7×10^{11} VG/mL, 8×10^{11} VG/mL, 9×10^{11} VG/mL, 1×10^{12} VG/mL, 2×10^{12} VG/mL, 3×10^{12} VG/mL, 4×10^{12} VG/mL, 5×10^{12} VG/mL, 6×10^{12} VG/mL, 7×10^{12} VG/mL, 8×10^{12} VG/mL, 9×10^{12} VG/mL, 1×10^{13} VG/mL, 2×10^{13} VG/mL, 3×10^{13} VG/mL, 4×10^{13} VG/mL, 5×10^{13} VG/mL, 6×10^{13} VG/mL, 7×10^{13} VG/mL, 8×10^{13} VG/mL, 9×10^{13} VG/mL, 1×10^{14} VG/mL, 2×10^{14} VG/mL, 3×10^{14} VG/mL, 4×10^{14} VG/mL, 5×10^{14} VG/mL, 6×10^{14} VG/mL, 7×10^{14} VG/mL, 8×10^{14} VG/mL, 9×10^{14} VG/mL, 1×10^{15} VG/mL, 2×10^{15} VG/mL, 3×10^{15} VG/mL, 4×10^{15} VG/mL, 5×10^{15} VG/mL, 6×10^{15} VG/mL, 7×10^{15} VG/mL, 8×10^{15} VG/mL, 9×10^{15} VG/mL, 또는 1×10^{16} VG/mL)의 용량으로 환자에게 투여될 수 있다. 상기 AAV 벡터는 대상체에게 약 1×10^7 VG/귀 내지 약 2×10^{15} VG/귀 (가령, 1×10^7 VG/귀, 2×10^7 VG/귀, 3×10^7 VG/귀, 4×10^7 VG/귀, 5×10^7 VG/귀, 6×10^7 VG/귀, 7×10^7 VG/귀, 8×10^7 VG/귀, 9×10^7 VG/귀, 1×10^8 VG/귀, 2×10^8 VG/귀, 3×10^8 VG/귀, 4×10^8 VG/귀, 5×10^8 VG/귀, 6×10^8 VG/귀, 7×10^8 VG/귀, 8×10^8 VG/귀, 9×10^8 VG/귀, 1×10^9 VG/귀, 2×10^9 VG/귀, 3×10^9 VG/귀, 4×10^9 VG/귀, 5×10^9 VG/귀, 6×10^9 VG/귀, 7×10^9 VG/귀, 8×10^9 VG/귀, 9×10^9 VG/귀, 1×10^{10} VG/귀, 2×10^{10} VG/귀, 3×10^{10} VG/귀, 4×10^{10} VG/귀, 5×10^{10} VG/귀, 6×10^{10} VG/귀, 7×10^{10} VG/귀, 8×10^{10} VG/귀, 9×10^{10} VG/귀, 1×10^{11} VG/귀, 2×10^{11} VG/귀, 3×10^{11} VG/귀, 4×10^{11} VG/귀, 5×10^{11} VG/귀, 6×10^{11} VG/귀, 7×10^{11} VG/귀, 8×10^{11} VG/귀, 9×10^{11} VG/귀, 1×10^{12} VG/귀, 2×10^{12} VG/귀, 3×10^{12} VG/귀, 4×10^{12} VG/귀, 5×10^{12} VG/귀, 6×10^{12} VG/귀, 7×10^{12} VG/귀, 8×10^{12} VG/귀, 9×10^{12} VG/귀, 1×10^{13} VG/귀, 2×10^{13} VG/귀, 3×10^{13} VG/귀, 4×10^{13} VG/귀, 5×10^{13} VG/귀, 6×10^{13} VG/귀, 7×10^{13} VG/귀, 8×10^{13} VG/귀, 9×10^{13} VG/귀, 1×10^{14} VG/귀, 2×10^{14} VG/귀, 3×10^{14} VG/귀, 4×10^{14} VG/귀, 5×10^{14} VG/귀, 6×10^{14} VG/귀, 7×10^{14} VG/귀, 8×10^{14} VG/귀, 9×10^{14} VG/귀, 1×10^{15} VG/귀, 또는 2×10^{15} VG/귀)로 투여될 수 있다.

[0156] 본원에 기술된 조성물은 전정 기능을 개선 (가령, 균형을 개선 또는 현기증 또는 어지러움을 감소시키고), 양측 성 전정병증을 치료하고, 진동시증을 치료하고, 균형 장애를 치료하고, SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 이식유전자에 의해 인코딩된 단백질의 발현을 증가시키고, SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 이식유전자에 의해 인코딩된 단백질의 기능을 증가시키고, 유모 세포 발생을 촉진 또는 증가시키고, 유모 세포 수를 증가시키고 (가령, 유모 세포 재생 또는 증식을 촉진 또는 유도하고), 유모 세포 성숙 (가령, 재생된 유모 세포의 성숙)을 증가 또는 유도하고, 유모 세포 기능을 개선하고, VSC 기능을 개선시키고, VSC 및/또는 전정 유모 세포 생존을 촉진시키고 또는 증가시키고, 및/또는 VSC 증식을 촉진 또는 증가시키는데 충분한 양으로 투여된다. 전정 기능은 균형 및 어지러움 (가령, 눈 움직임 테스트 (가령, ENG 또는 VNG), VOR 테스트 (가령, 머리 충동 테스트 (할마기-쿠르토이스 테스트, 가령, VHIT), 또는 칼로리 반영 테스트), 자세조영술, 회전-의자 테스트, ECOG, VEMP, 및 전문적인 임상 균형 테스트)를 이용하여 평가될 수 있고, 치료 전에 측정된 값과 비교하여 5% 또는 그 이상 (가령, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200% 또는 그 이상) 개선될 수 있다. 본원에 기술된 조성물은 전정 기능장애의 발생 또는 진행을 느리게하거나 또는 예방하는데 충분한 양이 투여될 수 있다 (가령, 전정 기능장애와 연관된 유전적 돌연변이를 휴대하고 있는

전정 기능장애의 가족력 (가령, 유전성 전정 기능장애)을 가진 대상체, 또는 전정 기능장애 (가령, 내이독성 약물, 두부-외상, 또는 질환 또는 감염)와 연관된 위험 인자들에 노출되었지만, 아직 전정 기능장애 (가령, 어지러움, 현기증, 또는 불균형)를 나타내지 않는 대상체, 또는 정도 내지 중등도 전정 기능장애를 나타내는 대상체). 대상체에게 투여되는 핵산 벡터 안에 SLC6A14 프로모터에 작동가능하도록 연계된 이식유전자에 의해 인코딩된 단백질은 면역조직화학, 웨스턴 블랏 분석, 정량적-실시간 PCR, 또는 단백질 또는 mRNA의 탐지를 위해 당분야에 공지된 기타 방법을 이용하여 평가될 수 있으며, 본원에 기술된 조성물의 투여 전 발현과 비교하여 5% 또는 그 이상 (가령, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200% 또는 그 이상) 증가될 수 있다. 유모 세포 수, 유모 세포 기능, 유모 세포 성숙, 유모 세포 재생, 또는 대상체에게 투여된 핵산 벡터에 의해 인코딩된 단백질의 기능은 전정 기능의 테스트에 기반하여 간접적으로 평가될 수 있으며, 치료를 받지 않은 대상체와 비교하였을 때 유모 세포 수, 유모 세포 기능, 유모 세포 성숙, 유모 세포 재생, 또는 상기 단백질의 기능에 대해 5% 또는 그 이상 (가령, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150%, 200% 또는 그 이상) 증가될 수 있다. 이들 효과는 본원에 기술된 조성물 투여 후 예를 들면, 1 주, 2 주, 3 주, 4 주, 5 주, 6 주, 7 주, 8 주, 9 주, 10 주, 15 주, 20 주, 25 주, 또는 그 이상 이내에 발생할 수 있다. 이들 환자는 치료에 사용된 용량 및 투여 경로에 따라 조성물 투여 후 1개월, 2개월, 3개월, 4개월, 5개월, 6개월 이상 후에 평가될 수 있다. 평가 결과에 따라 환자는 추가적인 치료를 받을 수도 있다.

[0157] **키트**

[0158] 본원에 기술된 조성물은 전정 기능장애 치료에 사용하는 키트에 제공될 수 있다. 조성물에는 본원에 기술된 SLC6A14 프로모터(가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드), 이러한 폴리뉴클레오티드를 함유하는 핵산 벡터, 그리고 관심대상의 단백질 (가령, 전정 기능장애를 치료하기 위해 VSCs에서 발현될 수 있는 단백질을 인코딩하는 본원에 기술된 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 폴리뉴클레오티드를 함유하는 핵산 벡터가 내포될 수 있다. 상기 핵산 벡터는 AAV 바이러스 캡시드 (가령, AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, Anc80, 7m8, PHP.B, PHP.eB, 또는 PHP.S)에 패키징될 수 있다. 상기 키트에는 의사와 같은 키트 사용자에게 본원에 설명된 방법을 수행하도록 지시하는 패키지 삽입물이 추가로 내포될 수 있다. 상기 키트에는 선택적으로 조성물을 투여하기 위한 주사기 또는 기타 장치들이 내포될 수 있다.

[0159] **실시예**

[0160] 다음의 실시예들은 본 명세서에서 기술된 조성물 및 방법이 어떻게 이용하고, 제조되고, 평가되는 지에 대한 설명을 당업자에게 제공하기 위해 제시되며, 순전히 본 발명의 예시로서 의도된 것이며, 발명자들이 자신의 발명으로 간주하는 범위를 제한하고자 함은 아니다.

[0161] **실시예 1. 생체 내 무린의 전정 기관에서 SLC6A14v2 및 SLC6A14v3 프로모터 활성 측정**

[0162] 생체내 SLC6A14v2 프로모터 및 SLC6A14v3 프로모터의 활성을 비교하기 위해, 핵-지향된 H2B-GFP 융합 단백질 (플라스미드 P530로부터; 도 3)를 구동시키는 인간 SLC6A14 프로모터 (서열 식별 번호: 3) 그리고 핵-지향된 H2B-GFP 융합 단백질 (플라스미드 P919로부터(서열 식별 번호: 2); 도 4)을 구동시키는 무린 SLC6A14 프로모터 (서열 식별 번호: 1)를 AAV8로 별도로 패키징하고, 1 μ L의 바이러스를 8-주령된 C57BL/6 수컷 마우스의 반고리관 뒤로 2.0×10^{10} vg/귀 (바이러스 당 n=6마리 마우스)의 용량으로 제공하였다. 2주 후 동물을 CO₂로 안락사시키고, PBS와 중성 완충 포르말린(NBF)을 관류했다. 측두골을 추출하였고, 난원낭을 미세-절개하였고, 유모 세포 핵 마커 Pou4f3(1:200, sc-1980, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, USA) 및 지지 세포 핵 마커 Sox2(1:200)(1:200, AF2018, R&D Systems, Inc., Minneapolis, Minnesota, USA)에 대한 형광 면역 표지를 수행했다.

[0163] 기관 전체를 유리 슬라이드에 장착하고, Zeiss LSM 800 공초점 현미경으로 영상화했다(도 1A-1C). 각 난원낭에 대해 공초점 이미지의 z-스택(stack)은 전체 난원낭을 캡처하기에 충분한 시야를 가진 20x/0.8NA 대물렌즈로 수집되었다. 각 z-스택은 유모 세포 핵층, 지지 세포 핵층 및 z-두께가 Nyquist 기준으로 설정된 중간엽층에 걸쳐 있다. 도 1A-1C의 이미지는 표시된 깊이에서 z-스택 내의 단일 z-평면의 확대된 영역을 보여준다. 핵 GFP 발현은 감각 상피 내의 지지 세포 핵층(도 1A), 감각 상피 내의 유모 세포 핵층(도 1B) 및 감각 상피 아래의 중간엽층(도 1C)에 나타난다. 두 프로모터 모두 지지 세포 핵층에서 비슷한 수준의 핵 GFP 발현이 검출되었다.

핵 GFP 발현은 유모 세포 핵층과 중간엽에서 실질적으로 적었다; 그러나, SLC6A14v3 프로모터(도 1C, 하단 행)에 비해 SLC6A14v2 프로모터(도 1C, 상단 행)를 갖는 중간엽에서 더 많은 라벨링이 가시화되었다.

[0164] GFP-발현 핵의 정량적 측정은 전체 난원낭 내의 GFP- 양성 핵 수, GFP 형광 강도 및 Pou4f3 및/또는 Sox2 면역 라벨링에 대한 공동-양성을 결정하는 Imaris 소프트웨어의 3D 계산을 위한 자동화된 알고리즘을 사용하여 이루어졌다. GraphPad Prism에서 통계 분석을 수행했다.

[0165] 검출 가능한 수준의 핵 GFP를 가진 지지 세포의 비율은 SLC6A14v2와 SLC6A14v3 프로모터 간에 비슷했다 (도 2A; 박스 플롯에서 점들은 개별 난원낭을 나타낸다). 그러나, 배경보다 높은 수준으로 검출가능한 지지 세포에서 핵 GFP의 평균 강도는 SLC6A14v2에 비해 SLC6A14v3 프로모터의 경우 훨씬 더 컸다 (도 2B; 산점도의 원은 모든 샘플의 개별 셀을 나타내고, 검은색 선은 모집단 평균을 나타낸다; $p < 0.0001$, Student의 t-테스트). 또한, 배경보다 높은 수준의 GFP가 검출 가능한 유모 세포 핵의 비율은 SLC6A14v3에 비해 SLC6A14v2 프로모터의 경우 훨씬 더 높았는데 (도 2C; $p = 0.001$, Student의 t-테스트), 그 이유는 양성 Sox2 면역표지에 의해 결정된 바와 같이 세포를 지지하지 않는 모든 GFP+ 핵의 백분율도 마찬가지였다 (도 2D; $p = 0.022$; Student의 t-테스트).

[0166] **실시예 2. 전정 기능장애가 있는 대상체에게 SLC6A14 프로모터를 함유하는 핵산 벡터를 함유하는 조성물의 투여**

[0167] 본원에 개시된 방법에 따르면, 당업자는 인간 환자와 같은 전정 기능장애가 있는 환자를 치료하여 전정 기능을 개선하거나 회복시킬 수 있다. 이를 위해, 당업자는 치료 단백질 (가령, 아토날 BHLH 전사 인자 1 (Atoh1))을 인코딩하는 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 SLC6A14 프로모터 (가령, 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드)를 함유하는 AAV 벡터 (가령, AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, Anc80, 7m8, PHP.B, PHP.eB, 또는 PHP.S)를 함유하는 조성물을 상기 인간 환자에게 투여할 수 있다. 하나의 실시예에서, 상기 벡터는 AAV8 캡시드 및 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오티드 219-3831을 함유한다. 상기 AAV 벡터를 함유하는 조성물은 예를 들면, 전정 기능장애를 치료하기 위해 내이로 국소 투여 (가령, 반고리관 안으로 주사) 함으로써 투여될 수 있다.

[0168] 환자에게 조성물을 투여한 후, 당업자는 다양한 방법으로 이식유전자에 의해 암호화된 치료 단백질의 발현 및 치료법에 대한 환자의 반응 개선을 모니터링할 수 있다. 예를 들면, 의사는 표준 테스트를 수행하여, 이를테면 전자진동조영술, 비디오 안전진동조영술, VOR 테스트(가령, 할마기-쿠르토이스 테스트, 가령, VHIT) 또는 칼로리 반사 검사), 회전 검사, 전정 유발된 근성 전위 또는 컴퓨터화된 동적 자세 검사를 이용하여 이 환자의 전정 기능을 모니터링할 수 있다. 이 환자가 조성물 투여 전에 얻은 테스트 결과와 비교하여 조성물 투여 후 하나 이상의 테스트에서 개선된 전정 기능을 나타낸다는 사실은 환자가 치료에 호의적으로 반응하고 있음을 나타낸다. 필요에 따라 후속 용량을 결정하고 투여할 수 있다.

[0169] 본 발명의 예시적인 실시예는 아래 열거된 단락에 설명되어 있다.

[0170] E1. 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 벡터.

[0171] E2. E1 중 임의의 하나의 핵산 벡터에서, 이때 상기 폴리뉴클레오티드는 이식유전자에 작동가능하도록 연계된다.

[0172] E3. E2의 핵산 벡터에서, 이때 상기 이식유전자는 이중성 이식유전자이다.

[0173] E4. E2 또는 E3의 핵산 벡터에서, 이때 상기 이식유전자는 단백질, 짧은 헤어핀 RNA (shRNA), 안티센스 올리고뉴클레오티드 (ASO), 뉴클레아제, 또는 마이크로RNA를 인코드한다.

[0174] E5. E4의 핵산 벡터에서, 이때 상기 폴리뉴클레오티드는 포유류 VSC에서 단백질, shRNA, ASO, 뉴클레아제, 또는 마이크로RNA의 전정 지지 세포 (VSC)-특이적 발현을 지시할 수 있다.

[0175] E6. E5의 핵산 벡터에서, 이때 상기 VSC는 인간 VSC이다.

[0176] E7. E4-E6중 임의의 하나의 핵산 벡터에서, 이때 상기 단백질은 스파트 유사 전사 인자 2 (Sal12), 칼모듈린 결합 전사 활성제 1 (Camta1), 헤스 관련된 패밀리 BHLH 전사 인자 및 YRPW 모티프 2 (Hey2), 가타 결합 단백질 2 (Gata2), 헤스 관련된 패밀리 BHLH 전사 인자 및 YRPW 모티프 1 (Hey1), 세라미드 합성효소 2 (Lass2), SR-박스 10 (Sox10), GATA 결합 단백질 3 (Gata3), 컷트 유사 호메오박스 1 (Cux1), 핵 수용체 서브패밀리 2 그룹 F 구성원 (Nr2f1), 헤스 관련된 패밀리 BHLH 전사 인자 (Hes1), RAR 관련된 올판 수용체 B (Rorb), Jun 프

로토-중양유전자 AP-1 전사 인자 하위단위 (Jun), 아연 핑거 단백질 667 (Zfp667), LIM 호메오박스 3 (Lhx3), 네이스트 헬릭스-루프-헬릭스 1 (Nhlh1), MAX 이량체화 단백질 4 (Mxd4), 아연 핑거 MIZ-유형 함유 1 (Zmiz1), 미엘린 전사 인자 1 (Myt1), 신호 변환기 및 전사 3의 활성체 (Stat3), BarH 유사 호메오박스 1 (Barhl1), 흥선세포 선택 연합된 높은 이동성 그룹 박스 (Tox), 변형 호메오박스 1 (Prox1), 핵 인자 I A (Nfia), 갑상선 호르몬 수용체 베타 (Thrb), MYCL 프로토-중양유전자 BHLH 전사 인자 (Myc11), 리신 탈메틸효소 5A (Kdm5a), CAMP 반응성 요소 결합 단백질 3 유사 4 (Creb3I4), ETS 변이체 1 (Etv1), 부계로 발현된 3 (Peg3), BTB 도메인 및 CNC 상동체 2 (Bach2), ISL LIM 호메오박스 1 (Isl1), 아연 핑거 및 BTB 도메인 함유 38 (Zbtb38), 사지 버드 및 심장 발달 (Lbh), 터비 이분성 전사 인자 (Tub), 유비퀴틴 C (Hmg20), RE1 침묵 전사 인자 (Rest), 아연 핑거 단백질 827 (Zfp827), AF4/FMR2 패밀리 구성원 3 (Aff3), PBX/노티드 1 호메오박스 2 (Pknos2), AT-풍부 상호작용 도메인 3B (Arid3b), MLX 상호작용하는 단백질 (Mlxip), 아연 핑거 단백질 (Zfp532), IKAROS 패밀리 아연 핑거 2 (Ikzf2), 스팔트 유사 전사 인자 1 (Sal11), SIX 호메오박스 2 (Six2), 스팔트 유사 전사 인자 3 (Sal13), Lin-28 상동체 B (Lin28b), 조절 인자 X7 (Rfx7), 뇌 유래된 신경영양성 인자 (Bdnf), 성장 인자 독립적 1 전사적 억제체 (Gfi1), POU 클래스 4 호메오박스 3 (Pou4f3), MYC 프로토-중양유전자 BHLH 전사 인자 (Myc), β -카테닌 (Ctnnb1), SRY-박스 2 (Sox2), SRY-박스 4 (Sox4), SRY-박스 11 (Sox11), TEA 도메인 전사 인자 2 (Tead2), 아토날 BHLH 전사인자 1 (Atoh1) 또는 Atoh1 변이체이다.

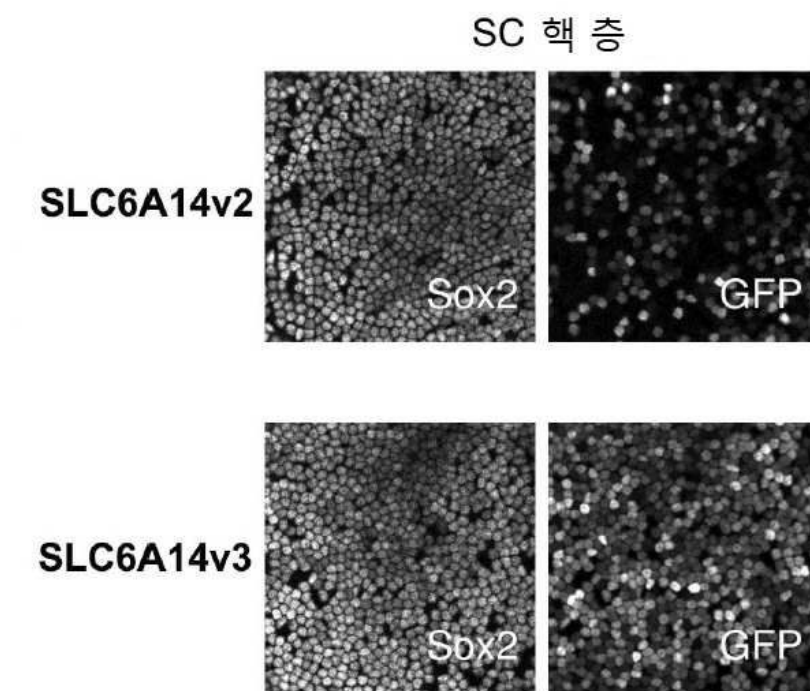
- [0177] E8. E7의 핵산 벡터에서, 이때 상기 단백질은 Atoh1이다.
- [0178] E9. E7의 핵산 벡터에서, 이때 상기 Atoh1 변이체는 S328A, S331A, S334A, S328A/S331A, S328A/S334A, S331A/S334A, 및 S328A/S331A/S334로 구성된 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환이다.
- [0179] E10. E2-E9중 임의의 하나의 핵산 벡터에서, 이때 상기 핵산 벡터는 상기 폴리뉴클레오타이드의 5'에 제1 역전된 말단 반복부; 그리고 상기 이식유전자의 3' 5'에서 3' 순서로, 임의선택적 전사-후 조절 요소, 폴리아데닐화 신호, 그리고 제2 역전된 말단 반복부를 추가로 포함한다.
- [0180] E11. E10의 핵산 벡터에서, 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831, 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831의 5'에 제1 역전된 말단 반복부를 포함하고, 이때 5' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 1-130에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖고; 그리고 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 219-3831의 3'에 제2 역전된 말단 반복부를 포함하며, 이때 3' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 10의 뉴클레오타이드 3919-4048에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖는다.
- [0181] E12. E10의 핵산 벡터에서, 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822, 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822의 5'에 제1 역전된 말단 반복부를 포함하고, 이때 5' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 1-130에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖고; 그리고 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 219-3822의 3'에 제2 역전된 말단 반복부를 포함하며, 이때 3' 역전된 말단 반복부는 서열 식별 번호: 11의 뉴클레오타이드 3910-4039에 대해 적어도 80% 서열 동일성을 갖는다.
- [0182] E13. E1-E12중 임의의 하나의 핵산 벡터에서, 이때 상기 핵산 벡터는 바이러스성 벡터, 플라스미드, 코스미드, 또는 인위적인 염색체이다.
- [0183] E14. E13의 핵산 벡터에서, 이때 상기 핵산 벡터는 바이러스성 벡터는 아데노-연합된 바이러스 (AAV), 아데노바이러스, 및 렌티바이러스로부터 선택된 바이러스성 벡터다.
- [0184] E15. E14의 핵산 벡터에서, 이때 상기 바이러스성 벡터는 AAV 벡터다.
- [0185] E16. E15의 핵산 벡터에서, 이때 상기 AAV 벡터는 AAV1, AAV2, AAV2quad(Y-F), AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, rh10, rh39, rh43, rh74, Anc80, Anc80L65, DJ/8, DJ/9, 7m8, PHP.B, PHP.eB, 또는 PHP.S 캡시드를 갖는다.
- [0186] E17. E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터를 포함하는 조성물.
- [0187] E18. E17의 조성물에서, 약제학적으로 수용가능한 운반체, 희석제, 또는 부형제를 더 포함한다.
- [0188] E19. 이식유전자에 작동가능하도록 연계된 서열 식별 번호: 1에 대해 적어도 85% 서열 동일성 (가령, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 그 이상, 서열 동일성)을 갖는 폴리뉴클레오타이드.
- [0189] E20. E19의 폴리뉴클레오타이드에서, 이때 상기 이식유전자는 이중성 이식유전자다.

- [0190] E21. E20의 폴리뉴클레오티드에서, 이때 상기 이식유전자는 단백질, shRNA, ASO, 뉴클레아제, 또는 마이크로RNA를 인코딩한다.
- [0191] E22. E21의 폴리뉴클레오티드에서, 이때 상기 단백질은 Sox9, Sal12, Camt1, Hey2, Gata2, Hey1, Lass2, Sox10, Gata3, Cux1, Nr2f1, Hes1, Rorb, Jun, Zfp667, Lhx3, Nhlh1, Mxd4, Zmiz1, Myt1, Stat3, Barhl1, Tox, Prox1, Nfia, Thrb, Mycl1, Kdm5a, Creb314, Etv1, Peg3, Bach2, Isl1, Zbtb38, Lbh, Tub, Hmg20, Rest, Zfp827, Aff3, Pknos2, Arid3b, Mlxip, Zfp532, Ikzf2, Sal11, Six2, Sal13, Lin28b, Rfx7, Bdnf, Gfi1, Pou4f3, Myc, Ctnnb1, Sox2, Sox4, Sox11, Tead2, Atoh1, 또는 Atoh1 변이체다.
- [0192] E23. E22의 폴리뉴클레오티드에서, 이때 상기 단백질은 Atoh1이다.
- [0193] E24. E19-E23 중 임의의 하나의 폴리뉴클레오티드 또는 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터를 포함하는 세포.
- [0194] E25. E24의 세포에서, 이때 상기 세포는 포유류 VSC다.
- [0195] E26. E25의 세포에서, 이때 상기 포유류 VSC는 인간 VSC이다.
- [0196] E27. E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물을 접촉시키는 것을 포함하는, 포유류 VSC에서 이식유전자를 발현시키는 방법.
- [0197] E28. E27의 방법에서, 이때 상기 이식유전자는 VSCs에서 특이적으로 발현한다.
- [0198] E29. E27 또는 E28의 방법에서, 이때 상기 포유류 VSC는 인간 VSC이다.
- [0199] E30. 대상체에게 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함하는, 전정 기능장애를 갖는 또는 이러한 장애 발달 위험이 있는 대상체를 치료하는 방법.
- [0200] E31. E30의 방법에서, 이때 상기 전정 기능장애는 어지러움, 현기증, 불균형, 양측성 전정병증 (양측 전정 기능저하로도 알려짐), 진동시증, 또는 균형 장애를 포함한다.
- [0201] E32. E30 또는 E31의 방법에서, 이때 상기 전정 기능장애는 노화-관련된 전정 기능장애, 두부-외상-관련된 전정 기능장애, 질환 또는 감염-관련된 전정 기능장애, 또는 내이독성 약물-유도된 전정 기능장애다.
- [0202] E33. E30-E32 중 임의의 하나의 방법에서, 이때 상기 전정 기능장애는 유전적 돌연변이와 연관된다.
- [0203] E34. E30 또는 E31의 방법에서, 이때 상기 전정 기능장애는 특발성 전정 기능장애다.
- [0204] E35. 전정 유모 세포 재생을 필요로 하는 대상체에서 전정 유모 세포 재생을 증가시키는 방법으로, 이 방법은 대상체에게 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다.
- [0205] E36. VSC 증식을 유도 또는 증가를 필요로 하는 대상체에서 이의 증식 유도 또는 증식을 증가시키는 방법으로, 이 방법은 대상체에게 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다.
- [0206] E37. 전정 유모 세포 증식을 필요로 하는 대상체에서 전정 유모 세포 증식을 증가시키는 방법으로, 대상체에게 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함하는, 전정 유모 세포 증식을 필요로 하는 대상체에서 전정 유모 세포 증식을 증가시키는 것을 포함한다.
- [0207] E38. 전정 유모 세포 성숙 (가령, 재생된 유모 세포의 성숙)을 유도 또는 증가를 필요로 하는 대상체에서 전정 유모 세포 성숙을 유도 또는 증가시키는 방법으로, 대상체에게 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다.
- [0208] E39. 전정 유모 세포 신경분포를 유도 또는 증가를 필요로 하는 대상체에서 전정 유모 세포 신경분포를 유도 또는 증가시키는 방법으로, 대상체에게 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다.
- [0209] E40. VSC 및/또는 전정 유모 세포 생존을 증가를 필요로 하는 대상체에서 이의 생존을 증가시키는 방법으로 대상체에게 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물의 효과량을 투여하는 것을 포함한다.
- [0210] E41. E35-E40 중 임의의 하나의 방법에서, 이때 대상체는 전정 기능장애 (가령, 어지러움, 현기증, 불균형, 양측성 전정병증 (양측 전정 기능저하), 진동시증, 또는 균형 장애)을 갖고 있거나, 또는 발달 위험에 처해 있다.

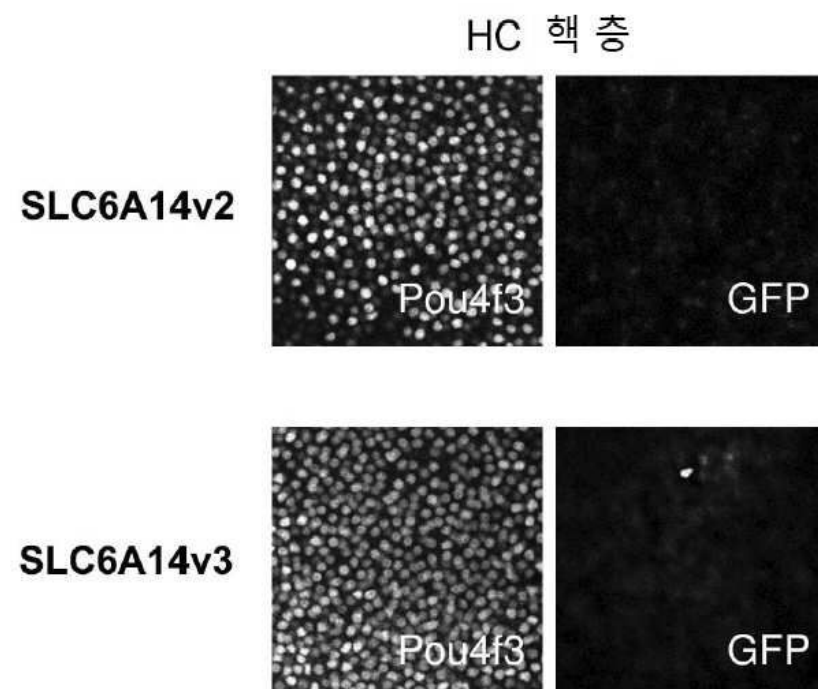
- [0211] E42. 양측성 전정병증을 갖는 또는 이의 발달 위험에 처해 있는 대상체 (양측 전정 기능저하로도 알려짐)를 치료하는 방법으로, 이 방법은 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물의 효과량을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0212] E43. 진동시증을 갖고 있거나, 또는 이의 발달 위험을 갖는 대상체를 치료한 방법으로, 이 방법은 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물의 효과량을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0213] E44. E42 또는 E43의 방법에서, 이때 상기 양측성 전정병증 또는 진동시증은 내이독성 약물-유도된 양측성 전정병증 또는 내이독성 약물-유도된 진동시증이다.
- [0214] E45. E32 또는 E44의 방법에서, 이때 상기 내이독성 약물은 아미노글리코사이드, 항종양제, 에타크린산, 푸로세미드, 살리실산염, 퀴닌으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0215] E46. 균형 장애를 갖고 있거나, 또는 이의 발달 위험을 갖는 대상체를 치료한 방법으로, 이 방법은 E1-E16 중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물의 효과량을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0216] E47. E30-E46 중 임의의 하나의 방법에서, 이때 상기 방법에는 상기 핵산 벡터 또는 조성물을 투여하기 전, 대상체의 전정 기능을 평가하는 것을 더 포함한다.
- [0217] E48. E30-E47 중 임의의 하나의 방법에서, 이때 상기 방법에는 상기 핵산 벡터 또는 조성물을 투여한 후, 대상체의 전정 기능을 평가하는 것을 더 포함한다.
- [0218] E49. E30-E48 중 임의의 하나의 방법에서, 이때 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 국소적으로 투여된다.
- [0219] E50. E49의 방법에서, 이때 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 반고리관으로 투여된다.
- [0220] E51. E49의 방법에서, 이때 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 고막을 경유하여 또는 고막 내로 투여된다.
- [0221] E52. E49의 방법에서, 이때 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 외림프로 투여된다.
- [0222] E53. E49의 방법에서, 이때 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 내림프로 투여된다.
- [0223] E54. E49의 방법에서, 이때 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 타원형 창으로 또는 타원형 창을 통해 투여된다.
- [0224] E55. E49의 방법에서, 이때 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 둥근 창으로 또는 둥근 창을 통해 투여된다.
- [0225] E56. E30-E55 중 임의의 하나의 방법에서, 이때 상기 핵산 벡터 또는 조성물은 전정 기능장애를 방지 또는 감소시키기 위해, 전정 기능장애 발달을 지연시키는 위해, 전정 기능장애의 진행을 느리게 하기 위해, 전정 기능을 개선시키기 위해, 전정 유모 세포 수를 증가시키기 위해, 전정 유모 세포 성숙 (가령, 재생된 유모 세포의 성숙)을 증가시키기 위해, 전정 유모 세포 증식을 증가시키기 위해, 전정 유모 세포 재생을 증가시키기 위해, 전정 유모 세포 신경분포를 증가시키기 위해, VSC 증식을 증가시키기 위해, VSC 수를 증가시키기 위해, VSC 생존을 증가시키기 위해, 전정 유모 세포 생존을 증가시키기 위해, 또는 VSC 기능을 개선시키는데 충분한 양으로 투여된다.
- [0226] E57. E30-E56중 임의의 하나의 방법에서, 이때 대상체는 인간이다.
- [0227] E58. E1-E16중 임의의 하나의 핵산 벡터 또는 E17 또는 E18의 조성물을 포함하는 키트.
- [0228] **기타 구체예들**
- [0229] 기술된 본 발명의 다양한 수정 및 변형은 본 발명의 범위 및 사상을 벗어나지 않고 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명은 특정 실시예와 관련하여 설명되었지만, 청구된 본 발명이 그러한 특정 실시 예에 부당하게 제한되어서는 안되는 것을 이해해야 한다. 실제로, 당분야의 숙련자에게 자명한 본 발명을 수행하기 위한 설명된 모드의 다양한 변형은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 다른 구체예들은 청구범위에 있다.

도면

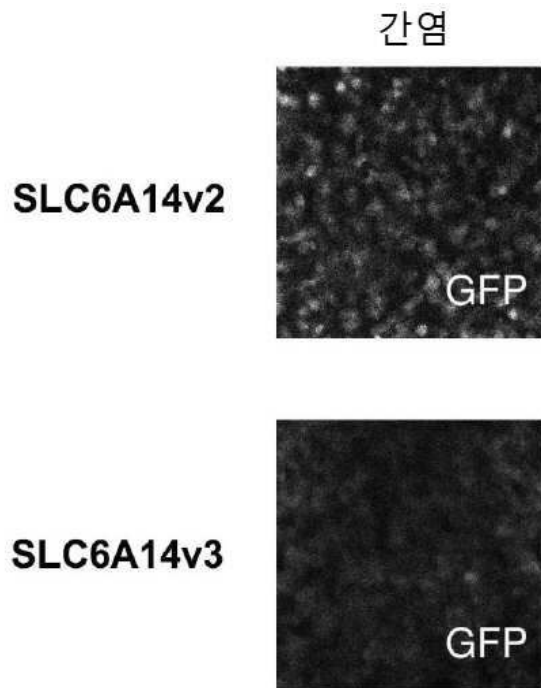
도면1a



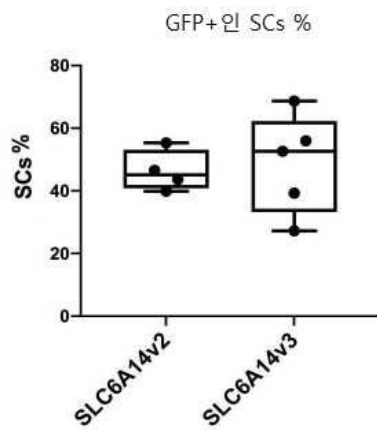
도면1b



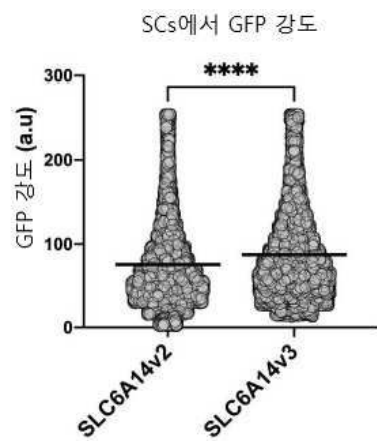
도면1c



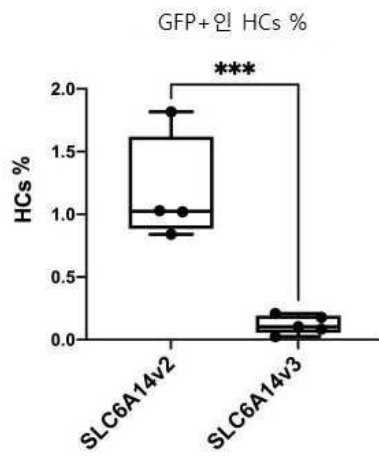
도면2a



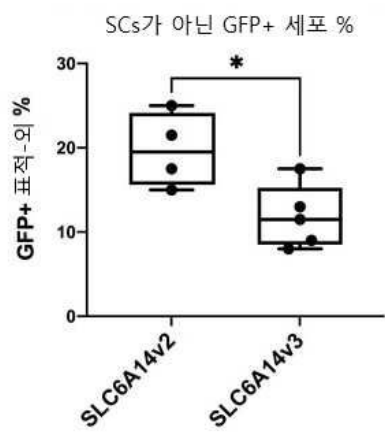
도면2b



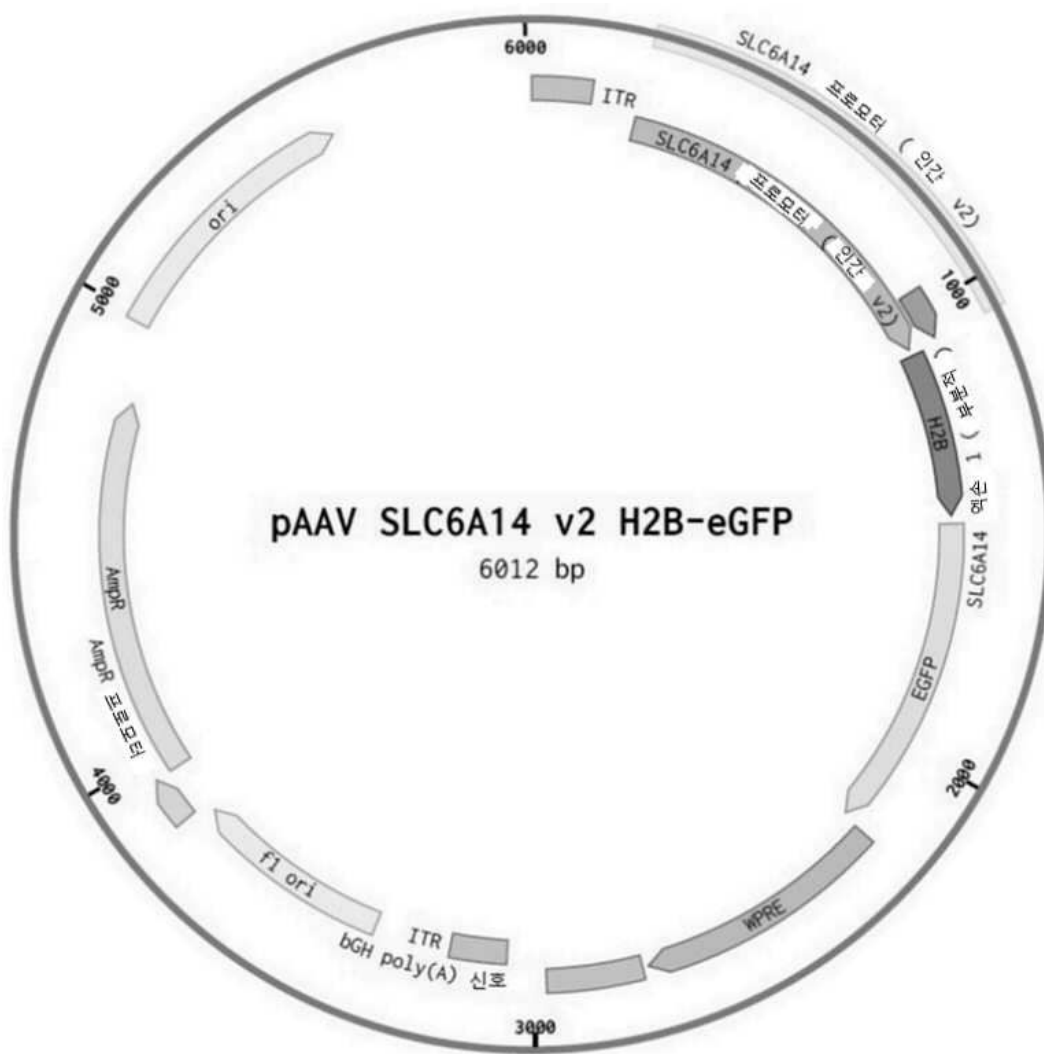
도면2c



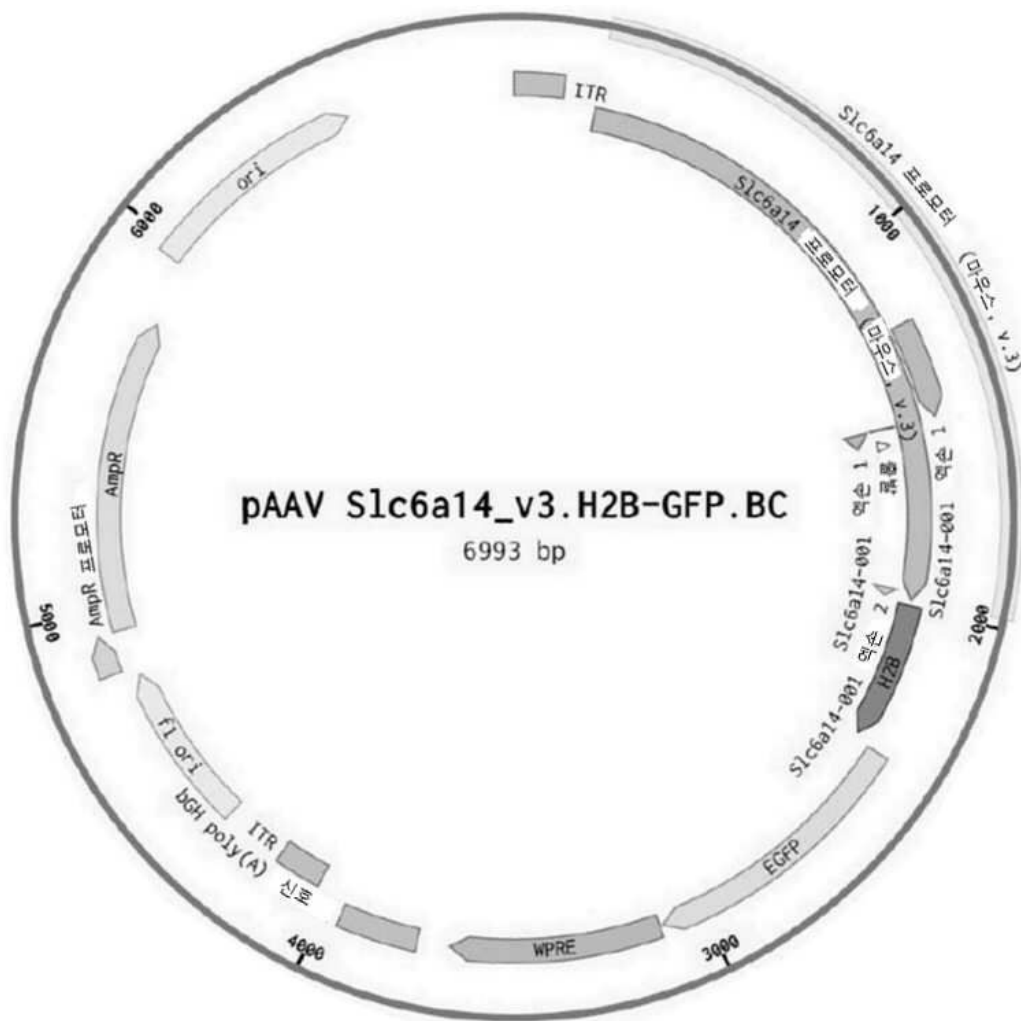
도면2d



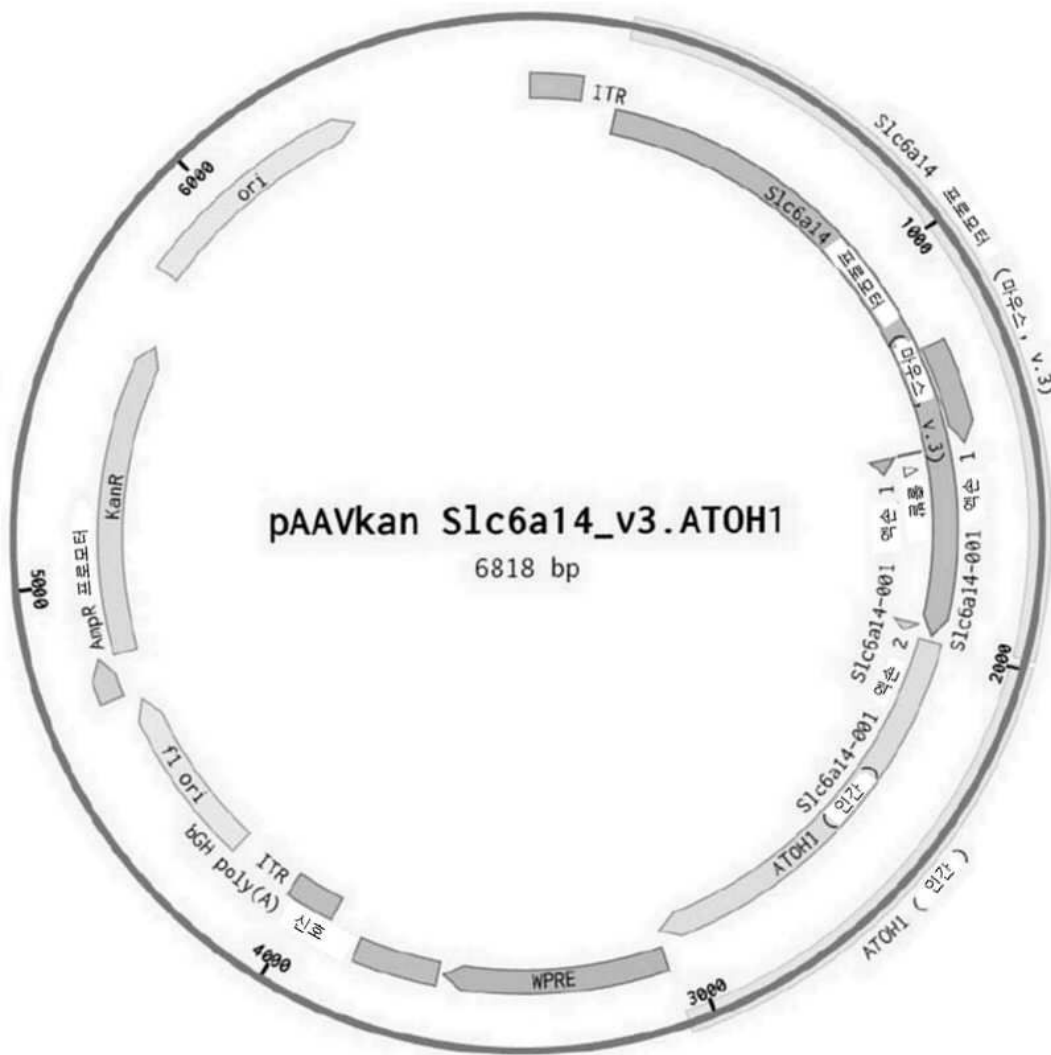
도면3



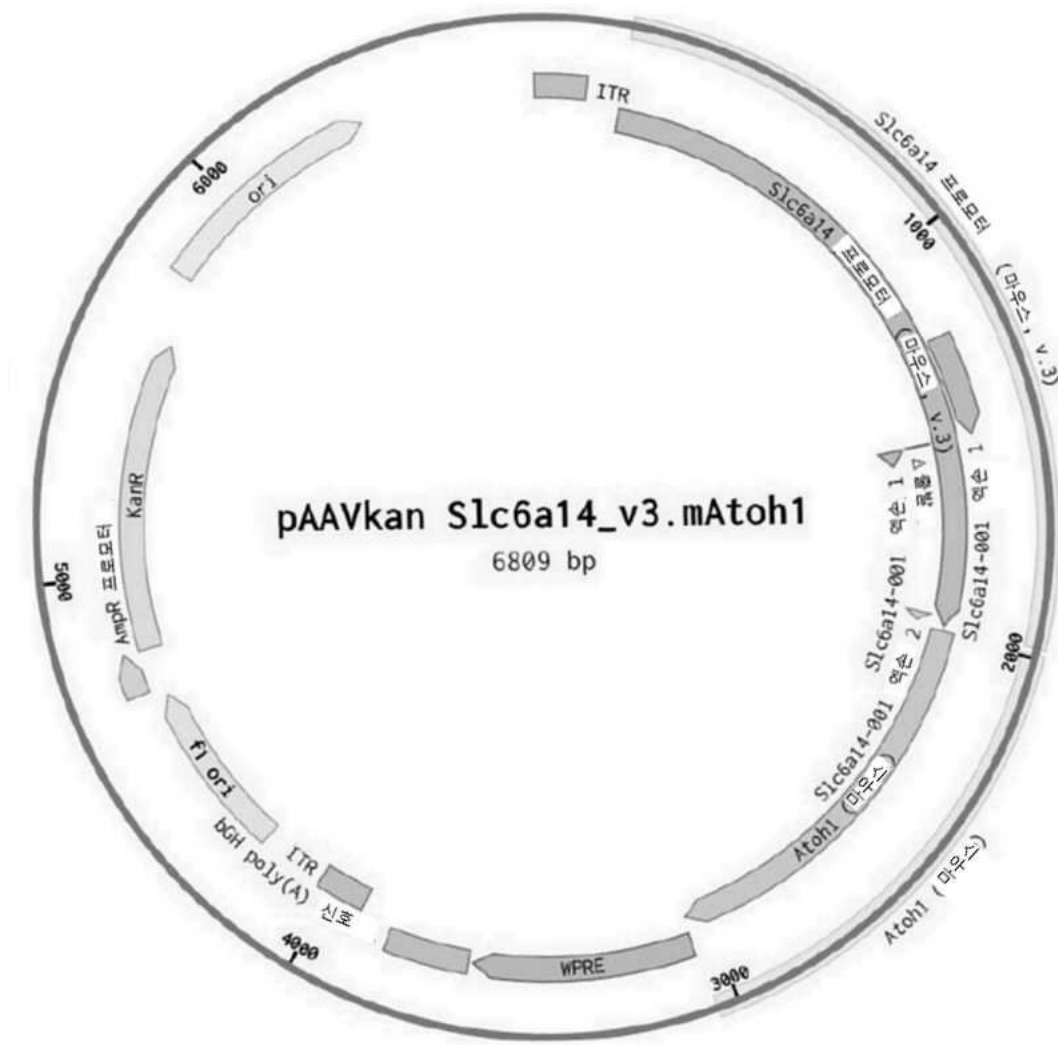
도면4



도면5



도면6



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Decibel Therapeutics, Inc.

<120> VESTIBULAR SUPPORTING CELL PROMOTERS AND USES THEREOF

<130> 51471-010W02

<150> US 63/184,015

<151> 2021-05-04

<160> 11

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1759

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 1

atacacttat gtatatgtgc gatgtcagtg tgtgtgcata taaagtccca aacaagcctg	60
tatgatattg accaacaagg tcaaggcaaa gttttgatac tttcaggtca caacctctcc	120
gcacccctct ctactttgct ctatctgcct gaactcctga ggacatgttt ctactgcaaa	180
tggaaaatcc ttgtcagcca gtgaggaaca aagggaactat acatagatga aaacttggt	240
ctctgctggt tcctttgttt gtatgaattt atacaatttg gtaaaactgc caccatgtct	300
tacatggaca gattgagigt agattctttg aatttttgat gaagaggcgc tgcactggtg	360
atcggaattg cagtctttcc tctgtaggta acctggcttg tttccttaca gtttactttc	420
taggcctcgc ctttctcaca gagtgaagtc ctttgtaag gttcgaattt ccataaacc	480
tgtcacaataa tttgtttgtg tttggcttct ttgaaatact acacaaagca atccttgtaa	540
aaggcaaaac tattccgaag gctgagaaaag gagctccagg acatagattc aaagtcgctc	600
ttttcaggta gagacagctg ggtaatctta tcttaactgg ctacatttca aggttcccaa	660
ttcaggggct ttccctctg ggagcagcat tctctcggg tgatgaagag ctttctagt	720
aggagcaaaa ctttcagaaa accggagggc ccagagcagt ctggtctgtt cacaaaaatt	780
atagcaaaca aaataagccc ggcggattgg gtctctccta cctccagcac caggggagat	840
cagcacttgg ccccaggaca gagacctgag aagtgagggt tggaagaagc caggaatcca	900
ggaaaggagg caagattgct aaggcaccgg cacagctctg agtcaaaagt tgtcagctct	960
ctttggctct ggctgcggag ctcaattgct cacagccctg ccttttcta gggctggggc	1020
aaggaattgc tacattcagg attacctggg ggaaaaacca gaggttgcct ttggtccctt	1080
ccggttaattg aaaggactgg ccgtcagcga gggggaggag agagcttccc tccataaatg	1140
gtcccacccc tgggcaaggt ggctcacttt ggcaggtagc aaccggggag tgtgcacctg	1200
ccaccagtca agctcagcca gactgtgaga agaggagagg cgaggcacac caagggatcc	1260
agtgaaccaa cgacagattg aagtccccga acttcttcaa gtgcagacag aaggaggtag	1320
ggttctggaa gtttctggtg gtgtagggga gtcaggaagg gaaaacaagg agggagagt	1380
agtcttagtt ttttgccttc ttagctgtt ccttattttg catatttctt tctcttcaac	1440
tcttttcaag tatgctgat acgttgttct cacgaagttg acgtgaaaa caactttcct	1500
gttggttagtt aggaaactta ggagcacctc aacctgtacc ttgagaacac ccagagaatg	1560
ctgctctttg tcgttctcta taccgtgttc atatgctgca gggaaatgca aagaatgtac	1620
tgtccttacc tgacctggg agcattccat agtcaagcag cagctatcag gttgggaaag	1680
agctcctctc caaggtgtaa cagaaaagga aaatgttgat attttcttg tttagaaagt	1740
gacagcttca tccgagaac	1759

<210> 2

<211> 6993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 2

```

ctgcgcgtc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc cgggcgctc ggcgacctt 60
ggtcgcccgg cctcagttag cgagcgagcg cgcagagagg gaggggcaa ctccatcact 120
aggggttcc ttagttaat gattaacccg ccatgctact tatctacga gccatgctct 180
aggaagatcg gaattcgccc ttaagctagc ggcgcgccat acacttatgt atatgtcgca 240
tgtcagtgtg tgtgcatata aagtcccaaa caagcctgta tgatattgac caacaaggtc 300
aaggcaaagt ttgatactt tcaggtcaca acctctccgc atccctctct actttgctct 360
atctgcctga actcctgagg acatgtttct actgcaaatg gaaaatcctt gtcagccagt 420

gaggaacaaa gggactatac atagatgaaa acttggtctt ctgctggttc ctttgtttgt 480
atgaatttat acaatttggg aaaactgcc ccatgtctta catggacaga ttgagttag 540
attctttgaa tttttgatga agagcgctg cactggtgat cggaattgca gtctttcctc 600
ttaggtaac ctggcttgtt tccttacagt ttactttcta ggctctgcct ttctcacaga 660
gtgaagtctt ttgttaagg tcaaatctc cataaacctg ctcaataatt tgtttgtgtt 720
tggtctcttt gaaatactac acaaagcaat ccttgtaaaa ggcaaaacta ttccgaaggc 780
tgagaaagga gtcaccaggac atagattcaa agtcgctctt ttcaggtaga gacagctggg 840

taatcttate ttaactggct acatttcaag gttcccaatt caggggcttt cccctctggg 900
agcagcattc tctccgggtg atgaagagct ttctagttag gagcaaaact ttcagaaaac 960
cggaggggcc agagcagctt ggtctgttca caaaaattat agcaaacaaa ataagcccgg 1020
cggattgggt ctctctacc tccagcacca ggggagatca gcaattggcc ccaggacaga 1080
gacctgagaa gtgaggtttg gaagaagcca ggaatccagg aaaggaggca agattgctaa 1140
ggcaccggca cagctctgag tcaaaagttg tcagtcttct ttggctctgg ctgcggagct 1200
caattgtca cagccctgcc ctttctagg gctggggcaa ggaattgcta cattcaggat 1260

tacctggggg aaaaaccaga ggcttgcttt ggtcccttcc ggtaattgaa aggactggcc 1320
gtcagcgagg gggaggagag agcttccctc cataaatggg cccacccctg ggcaagggtg 1380
ctcactttgg caggttagcaa cgggggagtg tgcacctgcc accagtcaag ctgagccaga 1440
ctgtgagaag aggagaggcg aggcacacca agggatccag tgaaccaacg acagattgaa 1500

```

gtgcccgaaac ttcttcaagt gcagacagaa ggaggtaggg ttctggaagt ttctggtggt	1560
gtaggggagt caggaaggga aaacaaggag ggagagttag tcttagtttt ttgctttctg	1620
tagctgttcc ttattttgca tattttcttc tcttcaactc ttttcaagta tgcctgatac	1680
gttgtttctca cgaagttgac gtgaaaaaca actttcctgc tggtagttag gaaacttagg	1740
agcacctcaa cctgtacctt gagaacaccc agagaatgct gctctttgtc gttctctata	1800
ccgtgttcat atgctgcagg gaaatgcaaa gaatgtactg tccttatctg accctgggag	1860
cattccatag tcaagcagca gctatcaggt tgggaaagag ctctctcca aggtgtaaca	1920
gaaaaggaaa atgttgatat ttttcttgtt tagaaagtga cagcttcac cgagaacgcg	1980
gccgcgccac catgccagag ccagcgaagt ctgctccgc cccgaaaaag ggctccaaga	2040
aggcgggtgac taaggcgag aagaaaggcg gcaagaagcg caagcgagc cgcaaggaga	2100
gctattccat ctatgtgtac aaggttctga agcaggtcca cctgacacc ggcatctgt	2160
ccaaggccat gggcatcatg aattcgtttg tgaacgacat tttcgagcgc atcgaggtg	2220
aggcttcccg cctggcgcat tacaacaagc gctcgacct cactccagg gagatccaga	2280
cgccgtgcg cctgctgtg cctggggagt tggccaagca cgccgtgtcc gaggtacta	2340
aggccatcac caagtacacc agcgctaagg atccaccggt cgccacctg gtgagcaagg	2400
gcgaggagct gttcacggg gtggtgcca tcctggtcga gctggacggc gacgtaaacg	2460
gccacaagtt cagcgtgtcc ggcgaggcg agggcgatgc cactacggc aagctgacct	2520
tgaagttcat ctgcaccacc ggcaagctgc ccgtgccctg gccaccctc gtgaccacc	2580
tgacctagg cgtgcagtgc ttcagccgt acccgacca catgaagcag cagacttct	2640
tcaagtcgc catgcccga ggctacgtcc aggagcgac catcttctc aaggacgacg	2700
gcaactacaa gaccgcgcc gaggtgaagt tcgaggcgga caccctggtg aaccgcatcg	2760
agctgaagg catcgacttc aaggaggacg gcaacatcct ggggcacaag ctggagtaca	2820
actaacacag ccacaacgtc tataatcatgg ccgacaagca gaagaacggc atcaagtgga	2880
acttcaagat ccgccacaac atcgaggacg gcagcgtgca gctcgccgac cactaccagc	2940
agaacacccc catcggcgac ggccccgtgc tgtgcccga caaccactac ctgagcacc	3000
agtcgccct gagcaaagac cccaacgaga agcgcgatca catggtcctg ctggagtctg	3060
tgaccgcgc cgggatcact ctggcatgg acgagctgta caagtaataa gcttggatcc	3120
aatcaacctc tggattacaa aatttgtgaa agattgactg gtattcttaa ctatgttgct	3180
ccttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgcctttgt atcatgctat tgcttccgt	3240
atggctttca ttttctctc ctgtataaaa tcctggttgc tgtctcttta tgaggagtgtg	3300

tggcccgcttg tcaggcaacg tggcgtggtg tgcactgtgt ttgctgacgc aacccccact	3360
ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga ctttcgcttt cccctccct	3420
attgccacgg cggaactcat cgccgcctgc cttgcccgct gctggacagg ggctcggctg	3480
ttgggcactg acaattccgt ggtgttgtcg gggaaatcat cgtcctttcc ttggctgctc	3540
gcctgtgttg ccacctggat tctgcgcggg acgtccttct gctacgtccc ttcggccctc	3600
aatccagcgg accttccctc ccgcggcctg ctgcggctc tgcggcctct tccgcgtctt	3660
cgaacaattg catcggacac atcttggcgt tttacaacgt cgtgactggg aaaaccctgg	3720
cgttacccaa cttagatct gcctcgactg tgccttctag ttgccagcca tctgttgttt	3780
gcccccccc cgtgccttcc ttgaccctgg aagggtgccac tcccactgtc ctttctaat	3840
aaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtaggtgtca ttctattctg gggggtgggg	3900
tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag caggcatgct ggggactcga	3960
gttaagggcg aattcccgat aaggatcttc cttagagcatg gctacgtaga taagtagcat	4020
ggcgggttaa tcattaacta caaggaacc ctagtgatgg agttggccac tccctctctg	4080
cgcgctcgct cgctcactga ggccgggcga ccaaaggctg cccgacgccc gggctttgcc	4140
cgggcggcct cagtgagcga gcgagcgcgc agccttaatt aacctaatc actggccgtc	4200
gttttacaac gtcgtgactg ggaaaaacct ggcgttaccc aacttaatcg ccttgcagca	4260
catccccctt tcgccactg gcgtaatagc gaagaggccc gcaccgatcg cccttcccaa	4320
cagttgcga gccatgaatg cgaatgggac gcgccctgta gcggcgcat aagcgcggcg	4380
ggtgtggtgg ttacgcgcag cgtgaccgt acacttgcca gcgccctagc gcccgtcct	4440
ttcgctttct tcccttctt tctcgccacg ttgcgggct tccccgtca agctctaaat	4500
cgggggctcc ctttaggtt ccgatttagt gctttacggc acctcgacce caaaaaactt	4560
gattaggggtg atggttcacg tagtgggcca tcgccctgat agacggtttt tcgccctttg	4620
acgttggagt ccacgttctt taatagtga ctcttgttcc aaactggaac aacactcaac	4680
cctatctcgg tctattcttt tgatttataa gggattttgc cgatttcggc ctattggtta	4740
aaaaatgagc tgatttaaca aaaatttaac gcgaatttta acaaaatatt aacgcttaca	4800
atttaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc tatttgttta ttttctaaa	4860
tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataaatgctt caataatatt	4920
gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc ccttattccc ttttttcggg	4980
cattttgcct tctgttttt gctcaccag aaacgtggt gaaagtaaaa gatgctgaag	5040

atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct caacagcggg aagatccttg 5100

agagtttttc ccccgaaagaa cgtttttcaa tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg 5160

gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc aagagcaact cggtcgccgc atacactatt 5220

ctcagaatga ctiggttag tactcaccag tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga 5280

cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac 5340

ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt ttgacacaac atgggggatc 5400

atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc 5460

gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac 5520

tacttactct agcttcccg caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagttgcag 5580

gaccacttct gcgctcgcc cttccggctg gctggtttat tgctgataaa tctggagccg 5640

gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccctcccgtg 5700

tcgtagttag ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg 5760

ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata 5820

tactttagat tgatttaaaa cttcatTTTT aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt 5880

ttgataatct catgacaaaa atcccttaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc 5940

ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgta atctgtctgt 6000

tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa 6060

ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat accaaatact gttcttctag 6120

tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgctc 6180

tgctaatact gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg 6240

actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca 6300

cacagcccag ctggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat 6360

gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa aggcggacag gtatccgta agcggcaggg 6420

tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa cgcctggat ctatatagtc 6480

ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc 6540

ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cttttttacg gttcctggcc ttttgctggc 6600

cttttctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc tgtggataac cgtattaccg 6660

cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac cgagcgcagc gagtcatgta 6720

gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc 6780

attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa 6840

ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac cccaggcttt acactttatg cttccggctc 6900

gatatgtgtg tggaattgtg agcggataac aatttcacac aggaacacgc tatgaccatg 6960
 attacgccag atttaattaa ggccttaatt agg 6993
 <210> 3
 <211> 834
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 aagctgggat gtttctcat agtttacttt ctaggcctca tctttcttac agagtgtgct 60

 cttttgttaa ggtagaatt tcccataaac ctgctcaata atttgtttgt gtttggcttc 120
 tttgaaatac tacacaaagc aatccctgta aaaggcaaag ctgtcctgaa ggctgagaaa 180
 ggagcctgag acataggctc caagttgctc ttttcaggca gagccagctg ggtaatctta 240
 tctcagatgg ctgcttttca aggtgcccaa ttcaggggct tttcctctgg gagcagcatt 300
 tgccccaggg aatcaagtc tttctagtca ggggcaaac tttgggaaat ctgaggaccc 360
 aggggtggtat ggtctgttca ggagaatttt ggggaacaga atggccccct tctccctcca 420
 gcacttgtag agatcagcac ttggccccag aacagagacc agactgagag gcgaggttag 480

 gaggaacacag gggaccagg aaaggcggct agattgcaaa cgtacctaca cagctctgag 540
 tcaaaggctg tcagtcatt cggtcagac tgctctgctc tccagcagcc cagcccttc 600
 ccagggtg ggcaggat tgctacatgt aggttatct ggggaaaaac cagagcctca 660
 ctttagtccc ttccggtaat tgacactact ggacaccag gagggggagg agagagcttc 720
 tcttcataaa tgttccacc cctgggcaag gtggtcact ctggcaggta ggaacagggg 780
 agagtgcacc tgctaccagt caagctcagc cagactgcaa gaggaggcga ggcg 834
 <210> 4
 <211> 354
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 4
 Met Ser Arg Leu Leu His Ala Glu Glu Trp Ala Glu Val Lys Glu Leu
 1 5 10 15
 Gly Asp His His Arg Gln Pro Gln Pro His His Leu Pro Gln Pro Pro
 20 25 30
 Pro Pro Pro Gln Pro Pro Ala Thr Leu Gln Ala Arg Glu His Pro Val
 35 40 45

Tyr Pro Pro Glu Leu Ser Leu Leu Asp Ser Thr Asp Pro Arg Ala Trp
 50 55 60

 Leu Ala Pro Thr Leu Gln Gly Ile Cys Thr Ala Arg Ala Ala Gln Tyr
 65 70 75 80
 Leu Leu His Ser Pro Glu Leu Gly Ala Ser Glu Ala Ala Ala Pro Arg
 85 90 95
 Asp Glu Val Asp Gly Arg Gly Glu Leu Val Arg Arg Ser Ser Gly Gly
 100 105 110
 Ala Ser Ser Ser Lys Ser Pro Gly Pro Val Lys Val Arg Glu Gln Leu
 115 120 125

 Cys Lys Leu Lys Gly Gly Val Val Val Asp Glu Leu Gly Cys Ser Arg
 130 135 140
 Gln Arg Ala Pro Ser Ser Lys Gln Val Asn Gly Val Gln Lys Gln Arg
 145 150 155 160
 Arg Leu Ala Ala Asn Ala Arg Glu Arg Arg Arg Met His Gly Leu Asn
 165 170 175
 His Ala Phe Asp Gln Leu Arg Asn Val Ile Pro Ser Phe Asn Asn Asp
 180 185 190

 Lys Lys Leu Ser Lys Tyr Glu Thr Leu Gln Met Ala Gln Ile Tyr Ile
 195 200 205
 Asn Ala Leu Ser Glu Leu Leu Gln Thr Pro Ser Gly Gly Glu Gln Pro
 210 215 220
 Pro Pro Pro Pro Ala Ser Cys Lys Ser Asp His His His Leu Arg Thr
 225 230 235 240
 Ala Ala Ser Tyr Glu Gly Gly Ala Gly Asn Ala Thr Ala Ala Gly Ala
 245 250 255

 Gln Gln Ala Ser Gly Gly Ser Gln Arg Pro Thr Pro Pro Gly Ser Cys
 260 265 270
 Arg Thr Arg Phe Ser Ala Pro Ala Ser Ala Gly Gly Tyr Ser Val Gln
 275 280 285
 Leu Asp Ala Leu His Phe Ser Thr Phe Glu Asp Ser Ala Leu Thr Ala

290 295 300
Met Met Ala Gln Lys Asn Leu Ser Pro Ser Leu Pro Gly Ser Ile Leu
305 310 315 320

Gln Pro Val Gln Glu Glu Asn Ser Lys Thr Ser Pro Arg Ser His Arg
325 330 335
Ser Asp Gly Glu Phe Ser Pro His Ser His Tyr Ser Asp Ser Asp Glu
340 345 350
Ala Ser

<210> 5

<211> 1062

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

atgtcccgcc tgctgcatgc agaagagtgg gctgaagtga aggagttggg agaccacccat	60
cgccagcccc agccgcatca tctcccgcaa ccgcccgccg cgccgcagcc acctgcaact	120
ttgcaggcga gagagcatcc cgtctaccgc cctgagctgt ccctcctgga cagcaccgac	180
ccacgcgcct ggctggctcc cactttgcag ggcatctgca cggcacgcgc cgcccagtat	240
ttgtacatt ccccgagct gggcgcctca gaggccgctg cgccccggga cgaggtggac	300
ggccgggggg agctggtaag gaggagcagc ggcggtgcca gcagcagcaa gagccccggg	360
ccggtgaaag tgcgggaaca gctgtgcaag ctgaaaggcg gggcgggtgt agacgagctg	420
ggctgcagcc gccaacgggc cccttcagc aaacaggtga atggggtgca gaagcagaga	480
cggctagcag ccaacgccag ggagcggcgc aggatgcatg ggctgaacca cgccttcgac	540
cagctgcgca atgttatccc gtcgttcaac aacgacaaga agctgtccaa atatgagacc	600
ctgcagatgg cccaaatcta catcaacgcc ttgtccgagc tgctacaaac gccagcggga	660
ggggaacagc caccgccgcc tcagcctcc tgcaaaagcg accaccacca ctttcgcacc	720
gcggcctcct atgaaggggg gcggggcaac gcgaccgcag ctggggctca gcaggcttcc	780
ggaggagacc agcggccgac cccgccggg agttgccgga ctctcttctc agccccagct	840
tctgcgggag ggtactcggg gcagctggac gctctgcact tctcgacttt cgaggacagc	900
gccctgacag cgatgatggc gcaaaagaat ttgtctcctt ctctccccgg gagcatcttg	960
cagccagtgc aggaggaaaa cagcaaaact tcgcctcggg cccacagaag cgacggggaa	1020

ttttccccc attccatta cagtgactcg gatgaggcaa gt 1062

<210> 6

<211> 351

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Met Ser Arg Leu Leu His Ala Glu Glu Trp Ala Glu Val Lys Glu Leu

1 5 10 15

Gly Asp His His Arg His Pro Gln Pro His His Val Pro Pro Leu Thr

20 25 30

Pro Gln Pro Pro Ala Thr Leu Gln Ala Arg Asp Leu Pro Val Tyr Pro

35 40 45

Ala Glu Leu Ser Leu Leu Asp Ser Thr Asp Pro Arg Ala Trp Leu Thr

50 55 60

Pro Thr Leu Gln Gly Leu Cys Thr Ala Arg Ala Ala Gln Tyr Leu Leu

65 70 75 80

His Ser Pro Glu Leu Gly Ala Ser Glu Ala Ala Ala Pro Arg Asp Glu

85 90 95

Ala Asp Ser Gln Gly Glu Leu Val Arg Arg Ser Gly Cys Gly Gly Leu

100 105 110

Ser Lys Ser Pro Gly Pro Val Lys Val Arg Glu Gln Leu Cys Lys Leu

115 120 125

Lys Gly Gly Val Val Val Asp Glu Leu Gly Cys Ser Arg Gln Arg Ala

130 135 140

Pro Ser Ser Lys Gln Val Asn Gly Val Gln Lys Gln Arg Arg Leu Ala

145 150 155 160

Ala Asn Ala Arg Glu Arg Arg Arg Met His Gly Leu Asn His Ala Phe

165 170 175

Asp Gln Leu Arg Asn Val Ile Pro Ser Phe Asn Asn Asp Lys Lys Leu

180 185 190

Ser Lys Tyr Glu Thr Leu Gln Met Ala Gln Ile Tyr Ile Asn Ala Leu

195 200 205

Ser Glu Leu Leu Gln Thr Pro Asn Val Gly Glu Gln Pro Pro Pro Pro
210 215 220

Thr Ala Ser Cys Lys Asn Asp His His His Leu Arg Thr Ala Ser Ser
225 230 235 240

Tyr Glu Gly Gly Ala Gly Ala Ser Ala Val Ala Gly Ala Gln Pro Ala
245 250 255

Pro Gly Gly Gly Pro Arg Pro Thr Pro Pro Gly Pro Cys Arg Thr Arg
260 265 270

Phe Ser Gly Pro Ala Ser Ser Gly Gly Tyr Ser Val Gln Leu Asp Ala
275 280 285

Leu His Phe Pro Ala Phe Glu Asp Arg Ala Leu Thr Ala Met Met Ala
290 295 300

Gln Lys Asp Leu Ser Pro Ser Leu Pro Gly Gly Ile Leu Gln Pro Val
305 310 315 320

Gln Glu Asp Asn Ser Lys Thr Ser Pro Arg Ser His Arg Ser Asp Gly
325 330 335

Glu Phe Ser Pro His Ser His Tyr Ser Asp Ser Asp Glu Ala Ser
340 345 350

<210> 7

<211> 1053

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 7

atgtcccgcc tgctgcatgc agaagagtgg gctgaggtaa aagagttggg ggaccacat 60

cgccatcccc agccgcacca cgctccgccg ctgacgccac agccacctgc taccctgcag 120

gcgagagacc ttcccgctta cccggcagaa ctgtccctcc tggatagcac cgaccacgc 180

gcctggctga ctccacttt gcagggcctc tgcacggcac gcgccgccca gtatctgctg 240

catttccccg agctgggtgc ctccgaggcc gcggcgcccc gggacgaggc tgacagccag 300

ggtgagctgg taaggagaag cggctgtggc ggctcagca agagccccgg gcccgtaaa 360

gtacgggaac agctgtgcaa gctgaagggt ggggtttag tggacgagct tggctgcagc 420

cgccagcgag ccccttcag caaacagggtg aatgggttac agaagcaaag gaggtggca 480

gcaaacgcaa gggaacggcg caggatgcac gggctgaacc acgccttcga ccagctgcgc 540
aacgttatcc cgtccttcaa caacgacaag aagctgtcca aatatgagac cctacagatg 600
gcccagatct acatcaacgc tctgtcggag ttgtgcaga ctcccaatgt cggagagcaa 660
ccgccgccgc ccacagcttc ctgcaaaaat gaccaccatc accttcgcac cgcctcctcc 720
tatgaaggag gtgcgggcgc ctctgcggta gctggggctc agccagcccc gggagggggc 780
ccgagaccta ccccgcccgg gccttgccgg actcgttctt caggcccagc ttcctctggg 840
ggttactcgg tgcagctgga cgctttgcac ttcccagcct tcgaggacag ggccctaaca 900

gcatgatgg cacagaagga cctgtgcct tcgtgcccg ggggcatcct gcagcctgta 960
caggaggaca acagcaaac atctcccaga tcccacagaa gtgacggaga gttttcccc 1020
cactctcatt acagtactc tgatgaggcc agt 1053

<210> 8

<211> 548

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 8

gatcaatca acctctggat taaaaattt gtgaaagatt gactggattt cttaactatg 60
ttgtccttt tacgctatgt ggatacgtg cttaaatgcc ttgtatcat gctattgctt 120
cccgatggc ttcatcttc tctccttgt ataaatcctg gttgctgtct ctttatgagg 180

agttgtggc cgttgtcagg caacgtggcg tgggtgtcac tgtgtttgct gacgcaaccc 240
ccactggttg gggcattgac accacctgtc agctccttc cgggacttcc gctttcccc 300
tcctattgc cacggcgga ctcacgccg cctgccttgc ccgtgctgg acaggggctc 360
ggctgttggg cactgacaat tccgtgggtg tgcggggaa atcatcgtcc ttcccttggc 420
tgctgcctg tgttgccacc tggattctgc gcgggacgtc cttctgtac gtcccttcgg 480
ccctcaatc agcggacctt cttcccgcg gcctgtgccc ggctctgcgg cctcttcgc 540
gtcttcga 548

<210> 9

<211> 425

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 9

aatcaacctc tggattacaa aatttgtgaa agattgactg gtattcttaa ctatgttgct 60
ccttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgcctttgt atcatgctat tgcttcccgt 120
atggctttca ttttctcctc cttgtataaa tcctggtttag ttcttgccac ggcggaactc 180
atcgccgcct gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc tgttgggcac tgacaattcc 240
gtggtgttta tttgtgaaat ttgtgatgct attgctttat ttgtaacat ctagctttat 300
ttgtgaaatt tgtgatgcta ttgctttatt tgaaccatt ataagctga ataaacaagt 360

taacaacaac aattgcatte attttatgtt tcaggttcag ggggagatgt gggaggtttt 420
ttaaa 425

<210> 10

<211> 6818

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 10

ctgcgcgctc gctcgctcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt 60
ggtcgcccgg cctcagttag cgagcgagcg cgagagagg gaggggcaa ctccatcact 120
aggggttctt ttagttaaatt gattaaccgc ccatgctact tatctacgta gccatgctct 180
aggaagatcg gaattcgccc ttaagctagc ggcgcgccat acacttatgt atatgtcgca 240

tgtcagtgtg tgtgcatata aagtcacaaa caagcctgta tgatattgac caacaaggtc 300
aaggcaaagt ttgatactt tcaggtcaca acctctccgc atccctctct actttgctct 360
atctgctga actcctgagg acatgtttct actgcaaatg gaaaatcctt gtcagccagt 420
gaggaacaaa gggactatac atagatgaaa acttggtctt ctgctggttc ctttgtttgt 480
atgaatttat acaatttggc aaaactgcca ccatgtctta catggacaga ttgagttag 540
attctttgaa tttttgatga agagcgctg cactggtgat cggaattgca gtctttcctc 600
ttagtagtaac ctggcttggt tccttacagt ttactttcta ggctcgcct ttctcacaga 660

glgaagtcct ttgttaaggt tcgaatttcc cataaacctg ctcaataatt tgtttgtgtt 720
tggtcttttt gaaatactac acaagcaat ccttgtaaaa ggcaaaacta ttccgaaggc 780
tgagaaagga gctccaggac atagattcaa agtcgctctt ttgaggtaga gacagctggg 840
taatcttata ttaactggct acatttcaag gttcccaatt caggggcttt cccctctggg 900
agcagcattc tctccgggtg atgaagagct ttctagttag gagcaaaact ttcagaaaac 960
cggaggggcc agagcagctt ggtctgttca caaaaattat agcaaaaaa ataagcccgg 1020

cggattgggt ctctcctacc tccagcacca ggggagatca gcacttggcc ccaggacaga 1080

 gacctgagaa gtgaggtttg gaagaagcca ggaatccagg aaaggaggca agattgctaa 1140
 ggcaccggca cagctctgag tcaaaagtgt tcagtcttct ttggctctgg ctgcggagct 1200
 caattgctca cagccctgcc ctttcctagg gctggggcaa ggaattgcta cattcaggat 1260
 tacctggggg aaaaaccaga ggcttgcttt ggtcccttcc ggtaattgaa aggactggcc 1320
 gtcagcgagg gggaggagag agcttccctc cataaatggt cccaccctg ggcaagggtg 1380
 ctcactttgg caggtagcaa ccggggagtg tgcacctgcc accagtcaag ctcagccaga 1440
 ctgtgagaag aggagaggcg aggcacacca agggatccag tgaaccaacg acagattgaa 1500

 gtgcccgaac ttcttcaagt gcagacagaa ggaggtaggg ttctggaagt ttctggtggt 1560
 gtaggggagt caggaaggga aaacaaggag ggagagttag tcttagtttt ttgctttctg 1620
 tagctgttcc ttattttgca tatttcttcc tcttcaactc ttttcaagta tgcctgatac 1680
 gttgttttca cgaagttgac gtgaaaaaca actttcctgc tggtagttag gaaacttagg 1740
 agcacctcaa cctgtacctt gagaacacc agagaatgct gctctttgtc gttctctata 1800
 ccgtgttcat atgtgcagg gaaatgcaaa gaatgtactg tccttatctg accctgggag 1860
 cattccatag tcaagcagca gctatcaggt tgggaaagag ctcctctcca aggtgtaaca 1920

 gaaaaggaaa atgttgatat ttttctgtt tagaaagtga cagcttcac cagaaacgcg 1980
 gccgcgccac catgtccgc ctgctgcatg cagaagagtg ggctgaagt aaggagttag 2040
 gagaccacca tcgccagccc cagccgcac atctccgca accgccgcg ccgccgcagc 2100
 cacctgcaac ttgacaggcg agagagcatc ccgtctacce gcctgagctg tccctcctgg 2160
 acagcaccca cccacgcgcc tggctggctc ccactttgca gggcatctgc acggcacgcg 2220
 ccgccagta ttgtctatc tccccggagc tgggtgcctc agaggccgct gcgccccggg 2280
 acgaggtgga cggccggggg gagctggtaa ggaggagcag cggcgggtgcc agcagcagca 2340

 agagccccgg gccggtgaaa gtgcgggaac agctgtgcaa gctgaaaggc ggggtggtgg 2400
 tagacgagct gggctgcagc cgccaacggg ccccttccag caaacagtg aatggggtgc 2460
 agaagcagag acggctagca gccaacgcca gggagcggcg caggatgcat gggctgaacc 2520
 acgccttcca ccagctgcgc aatgttatcc cgtcgttcaa caacgacaag aagctgtcca 2580
 aatatgagac cctgcagatg gcccaaatct acatcaacgc cttgtccgag ctgtacaaa 2640
 cgcccagcgg aggggaacag ccaccgccgc ctccagcctc ctgcaaaagc gaccaccacc 2700
 accttcgac cgcggcctcc tatgaagggt gcgcgggcaa cgcgaccgca gctggggctc 2760

agcaggcttc cggaggagc cagcggccga ccccgcccgg gagttgccgg actcgcttct 2820
 cagccccagc ttctgcggga gggctactcg tgcagctgga cgctctgcac ttctcgactt 2880
 tcgaggacag cggcctgaca gcgatgatgg cgcaaaagaa tttgtctcct tctctccccg 2940
 ggagcatctt gcagccagtg caggaggaaa acagcaaaac ttcgcctcgg tcccacagaa 3000
 gcgacgggga attttcccc cattccatt acagtactc ggatgaggca agttagaagc 3060
 ttggatccaa tcaacctctg gattacaaaa tttgtgaaag attgactggt attcttaact 3120
 atgttgctcc ttttacgcta tgttgatacg ctgctttaat gcctttgtat catgctattg 3180

 ctccccgtat ggctttcatt ttctctctct tgtataaate ctggttgctg tctctttatg 3240
 aggagtgtg gcccggtgtc aggcaacgtg gcgtgggtgt cactgtgttt gctgacgcaa 3300
 cccccactgg ttggggcatt gccaccacct gtcagctcct ttccgggact ttcgctttcc 3360
 ccctccctat tgccacggcg gaactcatcg ccgctgcct tgcccgtgc tggacagggg 3420
 ctcggtgtt gggcactgac aattccgtgg tgttgtcggg gaaatcatcg tcctttcctt 3480
 ggctgctcgc ctgtgttgc acctggattc tgcgcgggac gtccttctgc tacgtccctt 3540
 cggccctcaa tcagcggac ctctcttccc gcggcctgct gccggctctg cggcctcttc 3600

 cgcgtcttcg agatctgcct cgactgtgcc ttctagtgc cagccatctg ttgtttgccc 3660
 ctccccgtg cttctcttga ccttggagg tgccactccc actgtccttt cctaataaaa 3720
 tgaggaaatt gcatcgatt gtctgagtag gtgtcattct attctggggg gtggggtggg 3780
 gcaggacagc aagggggagg attgggaaga caatagcagg catgctgggg actcgagtta 3840
 agggcgaatt cccgataagg atcttcttag agcatggcta cgtagataag tagcatggcg 3900
 ggtaatcat taactacaag gaacccttag tgatggagt ggccactccc tctctgcgcg 3960
 ctgctcgtc cactgaggcc gggcgaccaa aggtcgccc acgcccgggc ttgcccggg 4020

 cggcctcagt gagcgagcga gcgcgcagcc ttaattaacc taattcactg gccgtcgttt 4080
 tacaacgtcg tgactgggaa aacctggcg ttaccaact taatcgctt gcagcacatc 4140
 cccctttcgc cagctggcgt aatagcgaag agggccgcac cgatcgccct tcccaacagt 4200
 tgcgcagcct gaatggcgaa tgggacgcgc cctgtacgg cgcatlaagc gcggcgggtg 4260
 tgggtggttac gcgcagcgtg accgtacac ttgccagcgc cctagcgccc gtcctttcg 4320
 ctttcttccc ttcttttct gccacgttc cggttttcc cgtcaagct ctaaatcggg 4380
 ggctcccttt aggtttccga tttagtctt tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt 4440

 agggatgatg ttcacgtagt gggccatcgc cctgatagac ggtttttcgc cctttgacgt 4500
 tggagtccac gttctttaat agtggactct gtgtccaaac tggaacaaca ctcaacccta 4560
 tctcggctcta ttcttttgat ttataaggga ttttgccgat ttgcgcctat tggttaaaaa 4620

atgagctgat ttaacaaaaa tttaacgcga attttaacaa aatattaacg cttacaattt	4680
aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aacccttatt tgtttatfff tctaaatata	4740
ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa	4800
aaggaagagt atgagccata ttcaacggga aacgtcgagg ccgcgattaa attccaacat	4860
ggatgctgat ttatatgggt ataaatgggc tcgcgataat gtcgggcaat caggtgcgac	4920
aatctatcgc ttgtatggga agcccgatgc gccagagtgg tttctgaaac atggcaaagg	4980
tagcgttgcc aatgatgta cagatgagat ggtcagacta aactggctga cggaatttat	5040
gcctcttcgc accatcaage attttatccg tactctctgat gatgcatggg tactcaccac	5100
tgcatcccc ggaaaaacag cattccaggt attagaagaa tatcctgatt caggtgaaaa	5160
tattgttgat gcgctggcag tgttcctgcg ccggttgcat tcgattcctg tttgtaattg	5220
tccttttaac agcgatcgcg tatttcgtct tgctcaggcg caatcacgaa tgaataacgg	5280
tttggttgat gcgagtgatt ttgatgacga gcgtaatggc tggcctgttg aacaagtctg	5340
gaaagaaatg cataaacttt tgccattctc accggattca gtcgtcactc atggtgattt	5400
ctcacttgat aaccttatff ttgacgaggg gaaattaata gggtgtattg atgttggacg	5460
agtcggaatc gcagaccgat accaggatct tgccatccta tggaactgcc tcggtgagtt	5520
ttctccttca ttacagaaac ggctttttca aaaatatggg attgataatc ctgatatgaa	5580
taaattgcag tticatttga tgctcgatga gtttttctaa ctgtcagacc aagtttactc	5640
atataactt tagattgatt taaaacttca tttttaattt aaaaggatct aggtgaagat	5700
cctttttgat aatctcatga ccaaaatccc ttaacgtgag ttttcgttcc actgagcgtc	5760
agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct ttttttctgc gcgtaatctg	5820
ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgtacc agcgggtggtt tgtttgccgg atcaagagct	5880
accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg cagataccaa atactgttct	5940
tctagttag ccgtagttag gccaccactt caagaactct gtagcaccgc ctacatacct	6000
cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc gataagtcgt gtcttaccgg	6060
gttgactca agacgatagt taccggataa ggcgagcgg tcgggctgaa cgggggggttc	6120
gigcacacag ccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga	6180
gctatgagaa agcgccacgc tcccgaagg gaaaaaggcg gacaggtatc cggtaaaggc	6240
cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg ggaaacgcct ggtatcttta	6300
tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga tttttgtgat gctcgtcagg	6360
ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgggcctttt ttacggttcc tggccttttg	6420
ctggcctttt gtcacatgt tctttcctgc gttatccct gattctgtgg ataaccgtat	6480

taccgccttt gagtgagctg ataccgctcg ccgcagccga acgaccgagc gcagcgagtc 6540

agtgagcgag gaagcggaag agcgcccaat acgcaaaccg cctctccccg cgcgttggcc 6600

gattcattaa tgcagctggc acgacaggtt tcccgaactgg aaagcgggca gtgagcgcaa 6660

cgcaattaat gtgagttagc tcactcatta ggcaccccag gctttacact ttatgcttcc 6720

ggctcgtatg ttgtgtggaa ttgtgagcgg ataacaattt cacacaggaa acagctatga 6780

ccatgattac gccagattta attaaggcct taattagg 6818

<210> 11

<211> 6809

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 11

ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgctc ggcgaccttt 60

ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa ctccatcact 120

aggggttctt ttagttaat gattaacccg ccatgctact tatctacgta gccatgctct 180

aggaagatcg gaattcgccc ttaagctagc ggcgcgccat acacttatgt atatgtcgca 240

tgtcagtgtg tgtgcatata aagtcccaaa caagcctgta tgatattgac caacaaggtc 300

aaggcaaagt ttgatactt tcaggtcaca acctctccgc atccctctct actttgctct 360

atctgcctga actcctgagg acatgtttct actgcaaatg gaaaatcctt gtcagccagt 420

gaggaacaaa gggactatac atagatgaaa acttggctct ctgctggttc ctttgtttgt 480

atgaatttat acaatttggc aaaactgcc aatgtctta catggacaga ttgagtgtag 540

attctttgaa tttttgatga agaggcgctg cactggtgat cggaattgca gtctttcctc 600

tgtaggtaac ctggcttggt tccttacagt ttactttcta ggctctgcct ttctcacaga 660

gtgaagtctt ttgttaaggt tcgaatttcc cataaacctg ctcaataatt tgtttgtgtt 720

tggtctcttt gaaatactac acaaagcaat ccttgtaaaa ggcaaaaact ttccgaaggc 780

tgagaaagga gctccaggac atagattcaa agtcgctctt ttcaggtaga gacagctggg 840

taatcttacc ttaactggct acatttcaag gttcccaatt caggggcttt cccctctggg 900

agcagcattc tciccggtg atgaagagct ttctagttag gagcaaaact ttcagaaaac 960

cggaggggcc agagcagctt ggtctgttca caaaaattat agcaaacaaa ataagcccgg 1020

cggattgggt ctctctacc tccagcacca ggggagatca gcacttggcc ccaggacaga 1080

gacctgagaa gtgaggtttg gaagaagcca ggaatccagg aaaggaggca agattgctaa 1140

ggcacccgca cagctctgag tcaaaagtig tcagttctct ttggctctgg ctgcggagct	1200
caattgtctca cagccctgcc ctttcttagg gctggggcaa ggaattgcta cattcaggat	1260
tacctggggg aaaaaccaga ggcttgcttt ggtcccttcc ggtaattgaa aggactggcc	1320
gtcagcgagg gggaggagag agcttccctc cataaatggt cccaccctg ggcaaggtgg	1380
ctcacttttg caggtagcaa ccggggagtg tgcacctgcc accagtcaag ctgagccaga	1440
ctgtgagaag aggagaggcg aggcacacca agggatccag tgaaccaacg acagattgaa	1500
gtgcccgaac ttcttcaagt gcagacagaa ggaggtaggg ttctggaagt ttctggtggt	1560
gtaggggagt caggaaggga aaacaaggag ggagagttag tcttagtttt ttgctttctg	1620
tagctgttcc ttattttgca tatttcttct tcttcaactc ttttcaagta tgcctgatac	1680
gttgttctca cgaagttgac gtgaaaaaca actttcctgc tggtagttag gaaacttagg	1740
agcacctcaa cctgtacctt gagaacaccc agagaatgct gctctttgtc gttctctata	1800
ccgtgttcat atgtctcagg gaaatgcaaa gaatgtactg tccttatctg accctgggag	1860
cattccatag tcaagcagca gctatcaggt tgggaaagag ctctctcca aggtgtaaca	1920
gaaaaggaaa atgttgatat ttttcttggt tagaaagtga cagcttcacg cgagaacgcg	1980
gccgcgccac catgtccgc ctgtctcatg cagaagagtg ggctgaggta aaagagttag	2040
gggaccacca tcgcatccc cagccgcacc acgtccgcc gctgaccca cagccacctg	2100
ctacctgca ggcgagagac ctteccgtct acccggcaga actgtccctc ctggatagca	2160
ccgaccacg cgcttggtg actccactt tgcaggcct ctgcacggca cgcgccgcc	2220
agtatctgct gcattctccc gagctgggtg cctccgaggc cgcggcgccc cgggacgagg	2280
ctgacagcca gggtagctg gtaaggagaa gcggctgtgg cggcctcagc aagagccccg	2340
ggcccgctcaa agtacgggaa cagctgtgca agctgaaggg tggggttgta gtggacgagc	2400
ttggctgcag ccgccagca gccccttcca gcaaacaggt gaatgggta cagaagcaaa	2460
ggaggctggc agcaaacgca agggaacggc gcaggatgca cgggctgaac cacgccttcg	2520
accagctgcg caacgttatc ccgtccttca acaacgacaa gaagctgtcc aaatatgaga	2580
ccctacagat ggcccagatc tacatcaacg ctctgtcgga gttgtgcag actccaatg	2640
tcggagagca accgccgcg cccacagctt cctgcaaaaa tgaccacat caccttcga	2700
ccgctctctc ctatgaagga ggtgcgggcg cctctcggt agctggggt cagccagccc	2760
cgggaggggg cccgagacct accccgccg ggccttgccg gactcgcttc tcaggcccag	2820
cttctcttgg gggttactcg gtgcagctgg acgttttga cttcccagcc ttcgaggaca	2880
gggcctaac agcgatgatg gcacagaagg acctgtcgcc ttcgtgccc gggggcatcc	2940

tcgagcctgt acaggaggac aacagcaaaa catctcccag atcccacaga agtgacggag	3000
agttttcccc ccactctcat tacagtgact ctgatgaggc cagttagaag cttggatcca	3060
atcaacctct ggattacaaa atttgtgaaa gatlgactgg tattcttaac tatgttgctc	3120
cttttacgct atgtggatac gctgctttaa tgcctttgta tcatgctatt gcttcccgt	3180
tggttttcat tttctctcc ttgtataaat cctggttgct gtctctttat gaggagtgt	3240
ggcccgttgt caggcaacgt ggcgtgggtg gcactgtgtt tgctgacgca acccccactg	3300
gttggggcat tgccaccacc tgcagctcc tttccgggac tttcgcttcc cccctcccta	3360
ttgccacggc ggaactcacc gccgcctgcc ttgcccgctg ctggacaggg gctcggtgt	3420
tgggcactga caattccgtg gtgtgttcgg ggaaatcacc gtcctttcct tggctgctcg	3480
cctgtgttgc cacctggatt ctgcgcggga cgtctttctg ctacgtccct tcggccctca	3540
atccagcgga cttctctcc cgccgcctgc tgcggctctt ggggcctctt ccgctcttc	3600
gagatctgcc tcgactgtgc cttctagtgt ccagccatct gttgtttgcc cctccccgt	3660
gccttccttg accctggaag gtgccactcc cactgtcctt tcctaataaa atgaggaaat	3720
tgcacgcat tgtctgagta ggtgtcattc tattctgggg ggtgggggtg ggcaggacag	3780
caagggggag gattgggaag acaatagcag gcatgtggg gactcgagtt aagggcgaat	3840
tcccgataag gatcttccta gagcatggct acgtagataa gtagcatggc gggttaatca	3900
ttaactacaa ggaaccctca gtgatggagt tggccactcc ctctctgcgc gctcgctcgc	3960
tcactgaggc cgggcgacca aaggtcgccc gacgccggg ctttccccgg gcgccctcag	4020
tgagcgagcg agcgcgcagc cttaatcaac ctaattcact ggccgtcgtt ttacaacgtc	4080
gtgactggga aaacctggc gttaccaaac ttaatcgct tgcagcacat cccctttcg	4140
ccagctggcg taatagcgaa gagggccgca ccgacgccc ttccaacag ttgcgcagcc	4200
tgaatggcga atgggacgcg ccctgtagcg gcgcattaa cgcgccgggt gtggtggtta	4260
cgcgacgct gaccgtaca cttgccagcg ccttagcgcc cgctccttc gctttcttc	4320
cttctttct cgccagttc gccgctttc ccgctcaagc tctaaatcgg gggtccctt	4380
tagggttccg atttagtgct ttacggcacc tcgaccccaa aaaacttgat taggggatg	4440
gttcacgtag tgggccatcg ccctgataga cggtttttcg cctttgacg ttggagtcca	4500
cgttctttaa tagtggactc ttgttccaaa ctggaacaac actcaaccct atctcggtct	4560
attcttttga tttataaggg attttgccga tttcgcccta ttggttaaaa aatgagctga	4620
tttaacaaaa atttaacgcg aattttaaca aaatattaac gcttacaatt taggtggcac	4680

ttttcgggga aatgtgcgcg gaacccttat ttgtttatTT ttctaaatac attcaaatat	4740
gtatccgctc atgagacaat aacctgata aatgcttcaa taatatTgaa aaaggaagag	4800
tatgagccat attcaacggg aaacgtcgag gccgcgatta aattccaaca tggatgctga	4860
tttataTggg tataaatggg ctcgcgataa tgcgggcaa tcaggtgcga caatctatcg	4920
cttgtatggg aagcccgatg cgccagagtT gtttctgaaa catggcaaag gtagcgTtgc	4980
caatgatgtt acagatgaga tggtcagact aaactggctg acggaattta tgcctcttcc	5040
gaccatcaag catTTtatcc gtactcctga tgatgcatgg ttactcacca ctgcgatccc	5100
cggaaaaaa gcattccagg tattagaaga atatcctgat tcaggtgaaa atattgttga	5160
tgcgctggca gtgttccTgc gccggttgca ttcgattcct gtttgtaatt gtccttttaa	5220
cagcgatcgc gtatttcgTc ttgctcaggc gcaatcacga atgaataacg gtttggttga	5280
tgcgagtgat tttgatgacg agcgtaatgg ctggcctgtt gaacaagtct ggaaagaaat	5340
gcataaaactt ttgccattct caccggattc agtcgtcact catggtgatt tctcattga	5400
taaccttatt tttgacgagg ggaaattaat aggttgtatt gatgttgac gagtcggaat	5460
cgcagaccga taccaggatc ttgccatcct atggaactgc ctcggtgagt ttctccttc	5520
attacagaaa cggtttttc aaaaatatgg tattgataat cctgatatga ataaattgca	5580
gtttcatttg atgctcgatg agtttttcta actgtcagac caagtttact catatatact	5640
ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga	5700
taatctcatg accaaaaTcc cttaacgtga gttttcgTtc cactgagcgt cagaccccgT	5760
agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca	5820
aacaaaaaaa ccaccgtac cagcggTggT ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct	5880
ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca aatactgttc ttctagtga	5940
gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct	6000
aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttgactc	6060
aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga acggggggTt cgtgcacaca	6120
gccagcttg gagcgaacga cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga	6180
aagcgccacg ctTcccgaag ggagaaaggc ggacaggtat ccggtlaacg gcagggtcgg	6240
aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg gggaacgcc tggTatcttt atagtctgt	6300
cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag	6360
cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt ttTaccgttc ctggcctttt gctggccttt	6420
tgctcacatg ttctttctg cgTtatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt	6480
tgagtgagct gataccgctc gccgcagccg aacgaccgag cgcagcgagt cagtgagcga	6540

ggaagcggaa gagcgcccaa tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta	6600
atgcagctgg cagcacaggt ttcccgactg gaaagcgggc agtgagcgca acgcaattaa	6660
tgtgagttag ctcactcatt aggcacccca ggctttacac tttatgcttc cggctcgtat	6720
gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt tcacacagga aacagctatg accatgatta	6780
 cgccagattt aattaaggcc ttaattagg	 6809